

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD (LYON I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1972 — N° 68

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE L'ÉPURATION BIOLOGIQUE D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL
PAR LE PROCÉDÉ DES BOUES ACTIVÉES**

Travail de la Division de Microbiologie
du Centre de Recherches
du Service de Santé des Armées

THÈSE

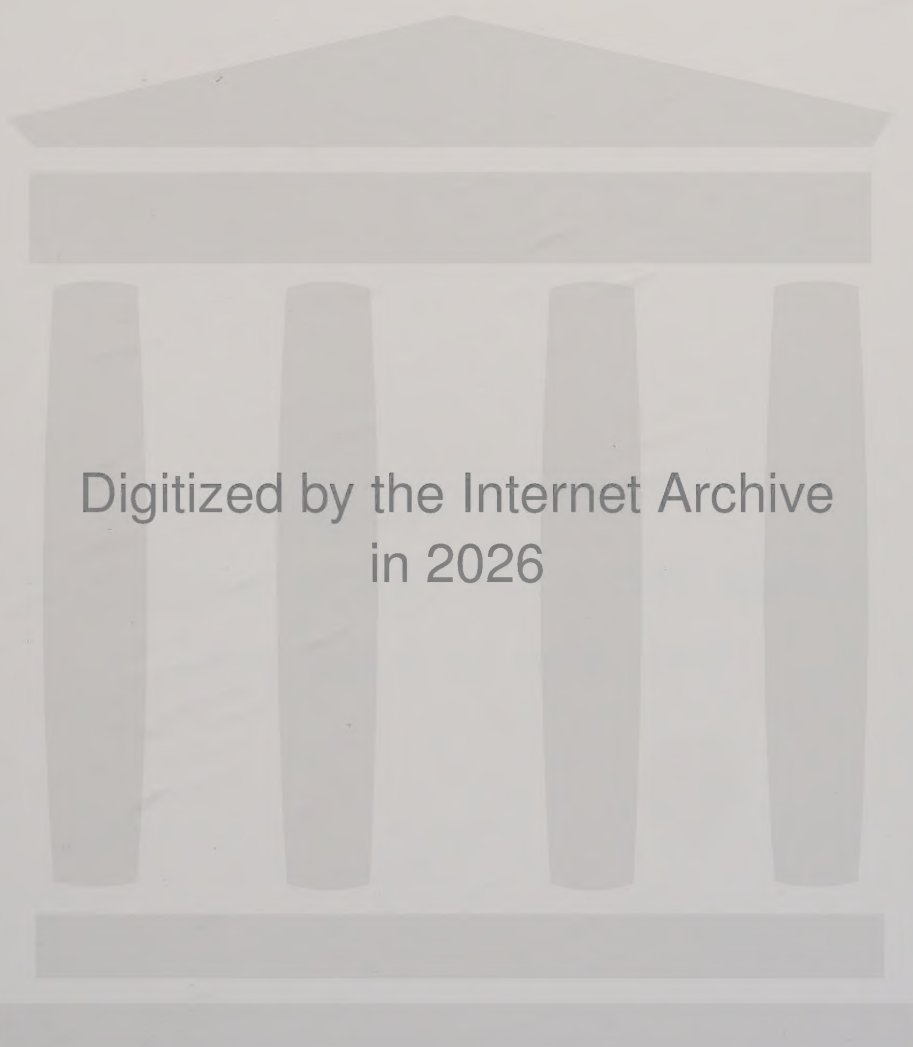
présentée

à l'Université Claude Bernard - Unité d'Enseignement
et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 23 MAI 1972
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Doctorat d'Etat)

par

BUATOIS Jacques

né le 12 Juin 1943
à LYON IV^e



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552624_0018

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE L'ÉPURATION BIOLOGIQUE D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL
PAR LE PROCÉDÉ DES BOUES ACTIVES**

DUATON Jacques

16 12 1961

2 10 1961

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD (LYON I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1972 — N° 68

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE L'ÉPURATION BIOLOGIQUE D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL
PAR LE PROCÉDÉ DES BOUES ACTIVES**

Travail de la Division de Microbiologie
du Centre de Recherches
du Service de Santé des Armées

THÈSE

présentée

à l'Université Claude Bernard - Unité d'Enseignement
et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 23 MAI 1972
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Doctorat d'Etat)

par

BUATOIS Jacques

né le 12 Juin 1943

à LYON IV^e



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

L Y O N

Président : Monsieur le Professeur J. BOIDIN

1er Vice-Président : M.R. TOURAINE, Maître de Conférences Agrégé

2ème Vice-Président : M.P. PONCET, Maître-Assistant

3ème Vice-Président : M.D. SETTELEN, Etudiant

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

UNITES

U.E.R. médicale Grange-Blanche
U.E.R. médicale Alexis-Carrel
U.E.R. médicale Lyon-Nord
U.E.R. médicale Lyon Sud-Ouest
U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques
U.E.R. des Techniques de Réadaptation
U.E.R. de Biologie Humaine
Institut Régional d'Education Physique
et Sportive
U.E.R. de Mathématiques
U.E.R. de Physique
U.E.R. de Chimie et Biochimie
U.E.R. des Sciences de la Nature
U.E.R. de Biodynamique et Psychopédagogie
U.E.R. de Physique nucléaire
Institut Universitaire de Technologie I
Institut Universitaire de Technologie II
Observatoire

DIRECTEURS

M. le Professeur D. GERMAIN
M. le Professeur C. GIROD
M. le Professeur A. BERTOYE
M. le Professeur L. TOLOT
M. M. CARRAZ Maître de Conférences-Agrégé
M. le Professeur P. MOUNIER-KUHN
M. J.C. CZYBA Maître de Conférences-Agrégé
M. J. SAPIN, Professeur E.P.S.

M. le Doyen J. BRACONNIER
M. le Professeur M. DUFAY
M. le Professeur D. GAUTHERON
M. le Professeur L. DAVID
M. le Professeur R. FONTANGES
M. le Professeur A. SARAZIN
M. le Professeur L. FEUVRAIS
M. J. GALLET
M. le Professeur J.H. BIGAY

Secrétaire Général : M. P. IZAUTE

Je dédie ce travail

A ma femme

A notre fille

A mes Parents

en témoignage de ma reconnaissance
et de ma profonde affection.

A tous ceux qui me sont chers

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur R. MALLEIN

Professeur de Biochimie Analytique dans l'UER
des Sciences Pharmaceutiques de l'Université
Claude Bernard LYON I.

Pharmacien Biologiste des Hôpitaux.

Nous le remercions d'avoir accepté de juger
notre travail et le prions de bien vouloir
trouver ici l'expression de notre respectueuse
reconnaissance.

A NOS JUGES :

Monsieur le Professeur M. SEPETDJIAN

Professeur Agrégé de Médecine Préventive et
d'Hygiène à l'Université Claude Bernard LYON I.

Nous le remercions de l'attention qu'il a
bien voulu nous témoigner en acceptant de
juger ce travail.

Monsieur le Médecin en Chef de 2^e Classe R. FONTANGES

Maître de Recherches du Service de Santé des Armées,
Maître de Conférences à l'Université Claude Bernard LYON I,
Chef de la Division de Microbiologie
du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées.

qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et
nous a prodigué ses conseils au cours de ce
travail.

Nous lui serions reconnaissant s'il voulait
trouver ici, l'expression de notre grande
admiration et notre profonde gratitude.

Monsieur le Professeur J. TERRAILLON

Professeur Agrégé de Microbiologie Technique.

Nous le remercions d'avoir accepté de juger
ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre
reconnaissance.

A Monsieur le Docteur J. VIAL

Chef de Service d'Hygiène appliquée
de l'Institut Pasteur de Lyon.

Nous lui serons toujours reconnaissant pour
son aide si précieuse et pour l'amitié qu'il
nous a témoignée tout au long de nos études.

Qu'il en soit sincèrement remercié.

Nous remercions également tous les membres du
personnel d'Hygiène appliquée de l'Institut Pasteur
de Lyon pour leur collaboration amicale et désintéressée.

Monsieur le Médecin de 2° Classe J. PENY

Assistant de Recherches du Service de Santé des Armées,
Chef de la Section de Bactériologie des Eaux
à la Division de Microbiologie.

Il nous a accueilli dans son laboratoire et
nous a judicieusement conseillé dans ce travail.

Qu'il soit permis de lui exprimer nos sincères
remerciements.

A mes camarades du laboratoire de Microbiologie du CRSSA
et tout spécialement Monsieur P. LE RAL pour son aide
efficace et constante.

Qu'ils soient assurés de mon entière amitié.

Je remercie le personnel civil et militaire
de la Division de Microbiologie du Centre de
Recherches du Service de Santé des Armées
pour leur accueil et leur aide.

A nos Maîtres des Hôpitaux de la Faculté de
Pharmacie de Lyon.

A Monsieur le Médecin Général

Directeur du Centre de Recherches
du Service de Santé des Armées.

INTRODUCTION

L'actualité des problèmes d'environnement, liée à l'accroissement des sources de pollution des milieux naturels, nous a amené dans le cadre de la bactériologie des eaux, à aborder le problème des possibilités d'épuration biologique d'un effluent industriel.

Dernier maillon de la chaîne d'épuration, la phase biologique n'en est pas pour autant la moins importante. Nous envisagerons les différents procédés biologiques utilisés. Un de ceux qui semble répondre à des critères satisfaisants, dont en particulier la mise en oeuvre est relativement facile et qui a retenu toute notre attention est celui des boues activées.

Afin d'étudier l'adaptation d'une boue activée utilisée dans la station d'épuration d'une grande raffinerie de pétrole, nous avons mis au point un appareillage pilote. Cet appareil a été utilisé pour étudier l'épuration d'un polluant bien déterminé, le diméthylsulfoxyde (DMSO) sur un fond continu constitué de matières organiques dissoutes ou en suspension. Ce travail a pour objet :

- 1) l'étude systématique des souches bactériennes du point de vue qualitatif et quantitatif. L'identification sera menée par les méthodes bactériologiques classiques, complétée par une étude de la croissance des souches en présence de différents substrats.
- 2) l'adjonction d'un produit chimique polluant dans le pilote permet l'analyse du pouvoir épurateur par l'ensemble des souches et par certaines souches en particulier. Nous n'avons tenu compte ici que du rôle des bactéries, exclusion faite des autres espèces de microorganismes qui entrent dans la composition de la boue constituant une biocénose. L'étude est poursuivie dans le temps après adaptation des microorganismes au polluant choisi, ceci en vue d'établir la persistance ou la modification

de la flore ainsi que les variations de performances de l'épuration en fonction des modifications des différents paramètres.

3) A partir des souches isolées, nous avons effectué des tests de croissance en présence du polluant, en vue de sélectionner et de rechercher les éventuelles modifications de l'épuration par une seule souche ou par l'addition à la flore de une ou plusieurs souches.

Ce travail a été effectué à partir d'échantillons de boues provenant de la raffinerie de FEYZIN (*).

(*) Nous remercions ici Monsieur DURAND, Chef du Service des Eaux de la raffinerie de Feyzin, qui a bien voulu nous fournir les échantillons pour la réalisation de ce travail.

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES TECHNIQUES D'EPURATION

Il n'existe pas de type de pollution. On peut même dire, au contraire, qu'il existe autant de pollution qu'il y a d'industries. En outre, chaque milieu aquatique, dans lequel se déverse l'effluent pollué, constitue un ensemble vivant, une biocénose possédant ses propres réactions. Ce double type de paramètres explique la difficulté de résoudre, de manière uniforme, le problème de l'épuration des eaux industrielles. A chaque type de pollution doit répondre un type d'épuration de l'eau.

1) Classification des eaux usées

Les eaux usées peuvent être classées dans deux grandes catégories, eaux d'égouts et eaux industrielles.

. Les eaux d'égouts sont constituées de matières en suspension et de matières dissoutes.

a) - Les premières se divisent en deux groupes : les matières inorganiques, relativement inertes, et les matières organiques, résidus de la vie sous toutes ses formes. Ces matières en suspension peuvent être enlevées par des moyens physiques ou mécaniques tels que la filtration et la sédimentation. Elles sont représentées principalement par du sable, de l'argile, des débris divers, des papiers et des matières organiques sujettes à décomposition (pour 70%). C'est la présence de ces matières organiques de diverses bactéries qui donne lieu aux fermentations : lactique, méthanique, sulfhydrique, ammoniacale, nitreuse, nitrique; et aux dégradations : dégradation des matières grasses, des matières azotées (pourriture et putréfaction). On divise habituellement ces matières en suspension d'une part en fraction sédimentable qui se dépose aisément en quelques heures,

d'autre part, en fraction non sédimentable considérée comme matières colloïdales. Aux Etats-Unis, on estime que ces matières colloïdales représentent 0,5 à 17% de la totalité des matières en suspension et que 90% sont putrescibles.

Les matières organiques contiennent surtout les éléments suivants : carbone, soufre, phosphore, azote et oxygène associés en molécules complexes : protéines, hydrates de carbone, graisses, dont GILCREAS (63) cite comme proportions courantes aux Etats-Unis :

- protéines	110 ppm
- hydrates de carbone	150 ppm
- graisses	40 ppm

b) - Les matières dissoutes donnent à l'eau un pH acide ou alcalin. La composition des matières dissoutes est, soit organique (40%) soit minérale (60%).

. Si, les caractéristiques des eaux d'égouts domestiques sont assez constantes pour constituer un type d'eau usée, il n'en est pas de même pour les eaux usées industrielles, variables à l'infini. On peut s'attacher à les caractériser et à les regrouper dans deux buts bien différents :

- soit en vue de s'orienter vers un traitement d'épuration adéquat,
- soit en vue d'estimer leur nocivité lors d'un déversement en égout ou en rivière.

C'est ainsi, par exemple, que selon RAZOUS (31), la classification suivante permet de fixer les grands axes des procédés d'épuration :

- Eaux non fermentescibles contenant en suspension et en solution des matières minérales neutres au point de vue chimique; telles sont les eaux de lavage de matériaux, les eaux de condenseurs, les eaux de lavage des gaz de hauts fourneaux et de la granulation des laitiers, les eaux de fonderie, les eaux de séparation par flottation....
- Eaux très peu fermentescibles contenant peu de matières organiques, mais chargées en composés chimiques, acides, basiques ou toxiques; telles sont les eaux des centres d'expédition de marchandises, de garages, de blanchisseries, de teintureries, du raffinage du pétrole, de carbonisation de la houille, des poudreries, des fabriques de produits chimiques et pharmaceutiques....

- Eaux très fermentescibles contenant en suspension et en solution des matières organiques; telles les eaux des industries agricoles, des abattoirs, des tanneries, des fabriques de colle...

"L'Office d'Épuration des Eaux Usées" porte son attention sur les caractéristiques suivantes, en relation avec la nocivité des eaux usées dans les rivières :

- température
- pH
- teneur en oxygène dissout
- teneur en matières sédimentables
- teneur en matières en suspension
- teneur en substances toxiques et corps chimiques divers
- présence et nature de germes pathogènes
- consommation biochimique en oxygène.

L'analyse détaillée est loin d'être toujours indispensable et la connaissance des caractères généraux est souvent suffisante, aussi bien pour le choix du traitement que pour l'estimation de la nocivité.

2) Les différents types de traitement

L'épuration des eaux usées, qu'il s'agisse d'eaux d'égouts ou d'effluents industriels fait appel à trois grandes catégories de traitement : physique, chimique et biologique, utilisés seuls ou en association. On a coutume de désigner le traitement physique et chimique par "épuration primaire", le traitement biologique réalisant l'épuration secondaire.

- Parmi les traitements du type "physique" on peut citer :
 - la dilacération des matières flottantes et des grosses particules en suspension,
 - le dégrillage ou tamisage grossier, également pour enlever les résidus solides d'un certain volume,
 - le déssablement ou sédimentation grossière, rapidement réalisée,
 - la séparation des films en surface, par collecte et pompage par exemple,
 - la sédimentation simple,
 - la flottation, simple ou aidée par l'aération, l'entraînement des gaz (CO_2),
 - la centrifugation,
 - la concentration par évaporation,
 - l'enlèvement de l'humidité par séchage,
 - la séparation de l'eau par compression ou dépression.

- Les traitements du type "chimique" constituent un très vaste arsenal dans les méthodes d'épuration. On citera :

- l'aération, qui est au moins aussi souvent un facteur d'aération qu'un facteur de mélange, d'agitation ou d'entraînement,
- l'oxydation chimique,
- la séparation par précipitation ou cristallisation,
- la coagulation associée à la floculation, améliorée par l'addition d'un coagulant organique (Polyelectrolyte). Ce procédé est utilisé pour traiter les eaux résiduaires de raffineries et permet de ramener la teneur en hydrocarbures de l'eau aux environs de 10 ppm (BERNARD (16)).
- la neutralisation des effluents acides ou basiques,
- la séparation des huiles et graisses par action chimique,
- la destruction des émulsions,
- l'extraction de certains produits par dissolvants,
- l'échange d'ions.

On rattachera à ce type de traitement les traitements électro-chimiques (électrolyse, électrodialyse) et toutes les séparations par membranes filtrantes spéciales.

- Les procédés d'épuration biologique ou traitement secondaire :

Le traitement secondaire a pour but d'éliminer les matières organiques solubles, ainsi que les dernières traces de matières organiques insolubles qui échappent aux décantations et filtrations du traitement primaire. Toutes les techniques de traitement biologique utilisent le principe de l'oxydation des produits organiques. Ces procédés d'épuration biologiques sont les moins onéreux parmi les traitements actuellement imaginés pour abaisser la demande en oxygène des eaux polluées, ce qui explique leur large utilisation.

Ils sont réalisés sous différentes formes dont les principales sont :

- les bassins d'oxydation
- les lits bactériens
- les bassins d'activation

1) Les bassins d'oxydation :

Dans ce procédé les microorganismes utilisent comme source d'énergie l'oxygène de l'atmosphère dissout naturellement dans les eaux et l'oxygène fourni par la photosynthèse. La photosynthèse impose qu'une grande surface soit exposée à la lumière solaire et que le bassin ait une faible profondeur. Le rendement de l'épuration est lié aux variations climatiques ce qui

nécessite en général un bassin supplémentaire pour la saison hivernale.

L'avantage de ce procédé est qu'il est très économique du point de vue fonctionnement et entretien. Par contre, son aspect est désagréable et l'épuration n'est pas satisfaisante, car les effluents filtrés ont de fortes DCO * (Mc KENDRICK (85)).

2) Les lits bactériens :

Le garnissage des lits bactériens est constitué soit de pierres (laves volcaniques, scories de haut fourneau) soit d'éléments en matière plastique. L'eau polluée est dispersée sur le garnissage à la surface duquel se développe une vase biologiquement très active. Les matières organiques de l'eau polluée sont adsorbées par les microorganismes présents dans la vase et sont dégradées par un métabolisme soit aérobie, soit anaérobie.

Un courant d'air peut être ménagé pour améliorer le rendement de l'épuration. Un effet semblable est obtenu en recyclant une partie de l'eau traitée.

A la sortie du lit bactérien, l'eau contient des matières en suspension provenant de l'arrachement de la vase. Une décantation est donc nécessaire pour produire un effluent clair.

Les lits bactériens ont l'avantage de refroidir l'eau polluée et de bien supporter les variations de charge de pollution mais ont dans l'ensemble un rendement d'épuration inférieur à celui des boues activées.

3) Les bassins d'activation :

a) Généralités

Il existe différents types de bassins, mais tous ont un point commun, le contact intime de l'eau polluée avec les bactéries grâce à une aération mécanique, qui d'autre part, a pour but de maintenir le milieu en aérobie.

Les matières organiques d'une part, sont oxydées en gaz carbonique et eau, et d'autre part servent à la synthèse de nouvelles bactéries.

* DCO ou demande chimique en oxygène.

Les différentes techniques utilisent soit :

- l'insufflation d'air
- l'aération de surface
- l'aération - agitation et recyclage

b) Procédé à insufflation d'air

L'air est introduit dans le bassin d'aération par le truchement de plaques poreuses ou de clapets afin d'être utilisé sous forme de bulles.

L'insufflation d'air est utilisée dans plusieurs types d'appareillages :

- Procédé conventionnel. Ce procédé, le plus ancien, a longtemps été utilisé dans le traitement des eaux domestiques. Par la suite et par extension, il a été utilisé dans le traitement des eaux résiduaires industrielles.

L'eau à traiter est mélangée aux boues activées et aérées tout au long d'un bassin étroit. L'effluent de ce bassin est dirigé vers un décanteur afin de séparer les boues activées de l'eau. Une partie des boues décantées est recyclée en amont du bassin d'aération, l'autre est purgée afin d'éviter une accumulation des boues.

- Procédé à aération proportionnelle. Ce procédé est également appelé : aération dirigée. La demande biochimique en oxygène (DBO) décroît tout au long du bassin. Aussi a-t-on pensé à équilibrer les débits d'air en fonction du profil de la DBO tout au long du bassin. Cette modification a peu modifié la qualité de l'effluent.

- Procédé à aération étagée. L'eau à traiter est introduite en différents points disposés sur toute la longueur du bassin de façon à équilibrer l'aération et la demande biochimique en oxygène.

c) Procédé à aération de surface

Dans ce procédé un moyen mécanique est mis en oeuvre pour favoriser le contact entre l'oxygène de l'air et l'eau à aérer, afin d'améliorer le transfert de l'oxygène et d'homogénéiser le mélange formé par l'eau usée et les boues activées.

Différents moyens peuvent être mis en oeuvre. Par exemple, des turbines d'aération qui agitent violemment la surface de l'eau par des mouvements de rotation ou des brosses KESSENER, dont la principale application est le fossé d'oxydation de

PASVEER-SLOOT. Dans cette installation des brosses rotatives sont disposées à la surface de canaux, dans lesquelles circule l'eau à traiter.

L'aération de surface est utilisée fréquemment dans les bassins à aération prolongée qui ne nécessite qu'une capacité d'oxygénation moyenne.

d) Bassins mixtes

Ce sont les bassins mixtes d'aération et d'agitation avec recyclage des boues. Dans ces bassins, l'eau est aérée par insufflation directe d'air et agitée par un moyen mécanique. Ce procédé est actuellement très utilisé dans l'industrie, car il supporte relativement bien les variations brutales de charges de pollution et l'épuration est très satisfaisante. De plus, le temps de rétention dans ces bassins est relativement court, ce qui a l'avantage de réduire les dimensions du bassin d'aération, mais l'inconvénient de produire un excès de boues qui nécessite généralement une installation annexe capable d'éliminer les boues sans créer de nouvelles sources de pollution (Digesteurs de boues, incinération).

En résumé, ce traitement biologique n'est donc qu'une étape dans le traitement des eaux usées. Ce traitement dit secondaire a surtout l'intérêt d'être économique et en outre, il ne fait qu'accélérer les phénomènes biologiques naturels du cycle des éléments et n'introduit pas de nouvelles sources de pollution. Pour réaliser notre étude, nous utiliserons le procédé dit des boues activées à agitation et aération combinées. En effet, c'est le type de bassin d'activation qui est le plus fréquemment rencontré dans l'industrie, car il allie économie et souplesse de fonctionnement.

Nous allons, dans un premier temps, étudier les mécanismes d'épuration par les boues activées.

CHAPITRE II

MECANISME D'EPURATION PAR LES BOUES ACTIVEES

Grâce aux microorganismes, les molécules biodégradables dissoutes ou en suspension sont complètement oxydées et rejetées sous forme de gaz carbonique, d'eau et de nitrates. Un appoint d'air maintient le milieu aérobie et accélère la vitesse du métabolisme.

Les mécanismes biologiques de l'épuration, ainsi que les paramètres physico-chimiques qui interviennent dans leur déterminisme feront l'objet de ce chapitre.

1) - THEORIE DU TRAITEMENT BIOLOGIQUE PAR LES BOUES ACTIVEES

Le traitement biologique des eaux polluées n'est pas une opération unitaire, mais la combinaison de plusieurs opérations, indépendantes, séquentielles dans le temps et l'espace :

a) - Le floc constitué d'agrégats, adsorbe les matières minérales et organiques en solution. Par les microorganismes qu'il contient, il assure la biodégradation. Le phénomène initial est le transfert des impuretés au floc ou autres formes biologiques par contact interfacial, adsorption et absorption combinées. L'efficacité de ce transfert est fonction de l'étendue de l'interface floc-liquide et du gradient de concentration des substances à éliminer. Comme le décrit BUSWELL, la qualité du contact est préservée parce que la tendance des matières dissoutes à changer de concentration est telle que la tension de surface décroît dans le floc. Les substances concentrées à la surface du floc sont adsorbées, puis décomposées par les enzymes accumulées dans les cellules vivantes (NEGULESCU (116)). Cette adsorption est un facteur primordial de l'épuration, précédant la biodégradation, comme l'a montré VAICUM (168) à pro-

pos de l'A.B.S. (Alkylbenzène sulfonate) : l'adsorption des détergents sur la boue activée est un facteur essentiel intervenant dans certains tests de biodégradation. FUKJOKA (55) d'autre part, précise que l'élimination de l'A.B.S. par les boues activées se fait en deux temps : adsorption et biodégradation; il décrit les phénomènes d'adsorption et montre que 80% de l'A.B.S. est détruit en une semaine par une boue initialement non acclimatée.

b) - La biodégradation par les bactéries et l'ensemble des microorganismes constituant la biocénose des boues activées aboutit à un accroissement du métabolisme bactérien, ayant pour conséquence d'une part, l'augmentation de la population bactérienne, d'autre part, l'élimination dans la phase liquide des produits du catabolisme des polluants dégradés. Les produits finaux de décomposition, eau, gaz carbonique et nitrates sont absorbés par l'eau ou s'échappent dans l'atmosphère. Le transfert des nitrates, par exemple qui retournent dans l'eau polluée parce qu'ils augmentent la "tension de surface" de l'interface, et le départ de gaz carbonique à cause de sa basse pression dans l'atmosphère s'expliquent ainsi :

2) - FONCTION DES MICROORGANISMES

a) - L'épuration biologique des eaux polluées est un phénomène identique à ceux qui se déroulent dans la nature lors de l'auto-épuration des eaux. Une eau polluée arrive spontanément, à la suite d'une série de transformations physiques, chimiques et biologiques à éliminer les éléments nocifs qu'elle renferme. Dans la cellule bactérienne, par le jeu de deux types de dégradations : métabolismes aérobie et anaérobie, les substances organiques à molécules complexes sont clivées en fragments de plus en plus simples jusqu'à production de gaz carbonique, eau et nitrates. A leur tour, ces produits peuvent être utilisés par les végétaux pour effectuer de nouvelles synthèses. Les fermentations anaérobies dans les boues ont été étudiées d'une part par MAH (106) pour les bactéries non méthanogènes et d'autre part, par ANDREWS (7) pour les bactéries méthanogènes.

b) - Les boues activées constituent quant à elles un biosystème, selon TILLMANN, mais les auteurs tendent à préférer le nom d'Ecosystème proposé par TANSLEY en 1935. Il s'agit d'un système fonctionnel qui inclut une biocénose et son environnement. L'échelon producteur est formé par les matières organiques polluantes et par le phytoplancton capable de produire également des matières organiques par l'intermédiaire de ses pigments assimilateurs à partir de l'énergie solaire, du gaz carbonique et des éléments minéraux dissous dans l'eau. Au contraire l'échelon consommateur est représenté par les champignons, les bactéries

et les animaux microscopiques. Les différentes catégories de consommateurs vont dépendre les uns des autres et constituer une chaîne trophique symbiotique.

COOKE (35) a montré que les champignons pouvaient jouer un rôle important dans la stabilisation des matières organiques, sous certaines conditions d'environnement, pH inférieur à 6, déficience en azote, concentration en oxygène dissout compris entre 0 et 0,5 mg/l. Des champignons comme les leptomitous, les fusarium, sont alors capables de métaboliser la plupart des composés organiques.

Les relations symbiotiques entre les algues et les bactéries jouent un rôle important. Les bactéries métabolisent les matières organiques en produisant du gaz carbonique et de l'ammoniac comme produits finaux, en présence d'oxygène. Les algues utilisent le gaz carbonique, l'ammoniac et les phosphates pour photosynthétiser de nouvelles cellules en présence de lumière et libérer de l'oxygène comme produit final. L'oxygène libéré est alors réutilisé par les bactéries pour oxyder les matières organiques.

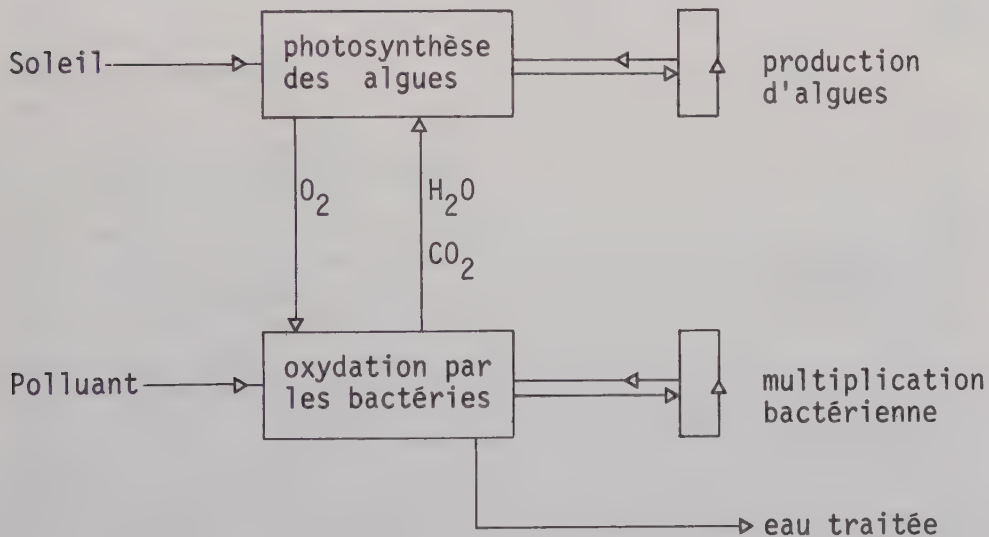


Figure 1 - Relations symbiotiques entre les algues et les bactéries.

Les animaux microscopiques dont les plus simples sont les protozoaires, ne trouvent pas assez de matières organiques dans les eaux usées pour s'assurer une croissance normale. Ils dépendent alors de l'aptitude qu'ont les bactéries à concentrer les matières organiques dans leur protoplasme et se nourrissent de bactéries. La fonction primaire des protozoaires dans une biocénose de boues activées est donc d'éliminer l'excès de bactéries. Il est possible de déterminer les caractéristiques biochimiques des systèmes de traitement biologique d'eaux usées en observant la prédominance des protozoaires et d'autres animaux de plus grande taille. CURDS et FEY (38) ont montré l'importance de ces protozoaires dans les boues activées : les protozoaires ciliés sont en général les protozoaires dominants présents, mais des protozoaires flagellés et des amibes ont été observés quelquefois; ces auteurs ont identifiés 67 espèces de ciliés et ont montré que pour des effluents de haute qualité, ils trouvaient une grande variété de protozoaires ciliés, en grand nombre. CURDS et FEY ont également montré qu'en ajoutant des protozoaires aux installations des boues activées, on diminuait le nombre de colibacilles présents. Selon le "système des Saprobies" de KOLKWITZ et MARSSON applicable aux eaux douces, REID (137) a montré que différentes espèces de VORTICELLA, V.convullaria, V.octava, V.aequilata, apparaissent comme des indicateurs d'épuration.

c) - Sur le plan qualitatif, un problème important est celui de la stabilité des biocénoses. GAUDY (60) a montré que le changement de l'espèce bactérienne dominante résulte de l'accumulation de solides dans le système et qu'une bonne épuration demande une diversité de population et un changement de l'espèce bactérienne dominante. Pour KLIMOWICZ (91), le changement des microorganismes et en particulier des protozoaires fournit une information sur la régularité du procédé d'épuration.

Par contre, d'autres auteurs, avec BELJAEVA (13) ont montré que chaque type de réservoir possède une biocénose stable très caractéristique.

Stabilité ou variation continuelle des constituants d'une biocénose, telles sont les deux théories opposées qui s'affrontent actuellement.

Parmi les espèces plus grandes, trouvées dans les systèmes de traitement biologique d'eaux usées, on remarque des rotifères et des crustacés avec une présence occasionnelle de nématodes. On voit donc que les différents organismes de cette chaîne trophique sont reliés entre eux par une symbiose véritable; de nombreux auteurs ont essayé de concrétiser ces relations ; GODEANU (65) propose un système de notation unitaire et standardisé de tous les groupes de microorganismes, à partir d'une re-

présentation graphique de l'évolution des biocénoses des boues activées; CANALE (30) propose un essai de mise au point mathématique de la chaîne alimentaire. Enfin DOWNIN (45) étudie la dynamique des populations lors de la nitrification et de l'élimination des détergents anioniques.

d) - Sur le plan quantitatif, la biocénose des boues activées aura une certaine capacité d'épuration qu'il faudra évaluer; SCHÖNBORN (146) détermine la biomasse active de la boue activée, c'est-à-dire le poids total de matière vivante existant à un moment donné dans l'écosystème considéré. Pour cela il mesure la croissance de la biomasse, le pourcentage d'ADN, la teneur en coenzymes, et en particulier la teneur en NAD, nicotinamide adénine dinucléotide, qui donne des indications intéressantes. EDEMINE (49) détermine la respiration des boues par un appareil, la cloche à boue qui lui permet de mesurer par unité de surface et de temps, l'oxygène consommé, les matières organiques produites et le volume de gaz dégagé. Enfin, SOMMERS (153) apprécie l'activité des boues activées par le "sludge volume index"; il est égal au volume en millilitre occupé par 1 gramme de boue activée après décantation de 30 minutes.

Tous les microorganismes présents dans les boues activées semblent donc nécessaires à l'épuration, mais les bactéries restent à la base de ce système puisqu'elles constituent le premier échelon consommateur.

3) - SOURCE DE MICROORGANISMES

Les microorganismes qui métabolisent les polluants organiques dans les eaux usées sont hautement spécialisés dans leurs réactions biochimiques. Ils sont facilement isolés, d'où l'idée de sélectionner des souches vis-à-vis de tel ou tel polluant.

KUNICKI-GOLDFINGER et coll. (94) en utilisant des souches sélectionnées ont montré que l'on pouvait obtenir une boue synthétique dont le rendement d'épuration était maximum après deux jours d'ensemencement. De la même façon, MIMURA (109) améliore le traitement d'eaux usées provenant d'industries pétrochimiques en ensemençant des boues activées avec une souche de "*Corynebacterium nitrophilus*".

NEGULESCU (117) met plusieurs mois pour adapter des effluents de raffineries à des boues naturelles et le rendement d'épuration obtenu est moindre. Mais certains auteurs (Manual on disposal of refinery wastes) ont montré que la culture de souches bactériennes particulières n'avait aucun avantage de rendement pour l'épuration sur les bactéries qui poussent à partir de contaminations naturelles.

En somme, l'aspect qualitatif des boues activées, tant du point de vue de sa stabilité que de l'importance dominante d'une espèce bactérienne donnée est l'objet d'opinions controversées selon les auteurs.

Quelles sont, en pratique, les sources de microorganismes des boues activées ? Les boues d'égout sont de bonnes sources de microorganismes, mais ils ne sont pas toujours présents en quantité suffisante. On pourrait penser, pour y suppléer, à ensemencer un fond de "boues activées" avec une ou plusieurs souches adaptées à un polluant donné, réalisant une véritable boue synthétique. Une bactérie peut en effet dégrader le phénol avec un rendement élevé, mais si l'on mélange au phénol d'autres effluents toxiques pour la souche en question, le rendement d'épuration sera diminué. Il semble difficile en pratique d'arriver à maîtriser l'ensemble biologique symbiotique qu'est une boue activée. Si bien qu'habituellement, après des essais empiriques, le choix des utilisateurs se fixe sur une boue qui présente un bon rendement d'épuration au départ. Le choix n'est en fait jamais basé sur l'étude analytique des composants d'une boue, mais sur les qualités épuratives de celle-ci.

4) - REACTIONS BIOCHIMIQUES DE BASE

a) - Les réactions biochimiques de base sont influencées, comme les réactions chimiques, par les conditions d'environnement et vont dépendre du procédé biologique de nutrition. Les réactions biochimiques fondamentales peuvent être théoriquement divisées en deux phases, synthèse et oxydation.

b) - La phase de synthèse consiste en la transformation d'une partie des matières organiques des eaux usées dans le nouveau protoplasme, lui-même constitué d'un mélange de protéines, glucides et lipides dans des proportions bien définies. Dans tout système biologique la composition chimique du protoplasme vivant tend vers une formule constante. PORGES et coll. (131) trouvèrent que les boues activées utilisées pour traiter les déchets de laiterie avaient comme formule brute : $C_5 H_7 O_2 N$. SYMONS et Mc KINNEY (157) confirmèrent ces résultats. On rencontre de nombreux autres éléments dans le protoplasme, en particulier du phosphore, la formule brute devient alors $C_{55} H_{77} O_{22} N_{11} P$, du soufre, du sodium, du potassium, du calcium, du fer et du molybdène; ces derniers éléments sont apportés à l'état de trace par les eaux usées, alors que phosphore et azote sont généralement absents. Dans certains cas et en particulier dans les eaux résiduelles de raffineries, on trouve d'emblée des sels de phosphore et d'azote; NEGULESCU (117) a montré que pour avoir une bonne épuration biologique dans le cas d'une

raffinerie il fallait ajouter aux substances biogènes nécessaires à l'épuration 30 mg/l d'azote et 6 mg/l de phosphore; on obtient alors une stabilisation maximum.

La quantité d'éléments nutritifs requise pour la stabilisation d'une eau polluée donnée, dépend de la quantité de bactéries produites. Ainsi un système de traitement biologique avec une forte synthèse microbienne aura besoin de beaucoup d'azote et de phosphore outre les autres éléments nécessaires. Dans le cas d'une synthèse microbienne plus faible, les besoins en azote et en phosphore seront moindres:

Ces demandes variables en éléments nutritifs ont créés quelques confusions dans la littérature. Néanmoins, depuis que la demande en éléments a été reliée à la synthèse cellulaire, la plupart des systèmes donnent les mêmes résultats. Mc KINNEY (Complete Mixing Activated sludge 1960 (86)), donne les conclusions suivantes : la demande en azote et en phosphore est maximale dans les systèmes d'épuration biologique à forte vitesse; la quantité maximale de protoplasme synthétisé serait de 0,700 kg de solide volatil par kilogramme de DBO₅ métabolisé, l'analyse chimique des cellules montre que 0,087 kg d'azote sont nécessaires pour chaque kilogramme de DBO₅ métabolisé ou approximativement de 1 kg d'azote pour 12 kg de DBO₅ métabolisés. L'analyse chimique a également montré que la demande en phosphore est égale au 1/5 de la demande en azote.

c) - A cette phase de synthèse succède une phase d'oxydation. La réaction biochimique de base pour la stabilisation des matières organiques par les microorganismes dans les eaux polluées peut être schématisée de la façon suivante :

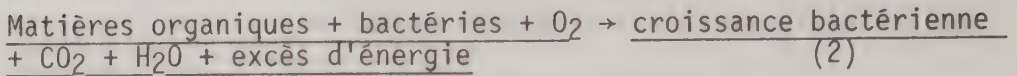
Matières organiques + Bactéries → croissance bactérienne + produits finaux + excès énergie (1)

Cette réaction est à la base de tout système d'épuration biologique des eaux usées. Pour une période de temps donnée cette réaction doit être équilibrée du point de vue chimique et du point de vue énergétique.

Deux conditions d'environnement principales existent dans les systèmes d'épuration biologique et ont un effet sur les réactions :

- condition aérobie s'il y a un excès d'oxygène libre dissout dans le système biologique,
- condition anaérobie s'il y a absence d'oxygène libre dissout dans le système biologique.

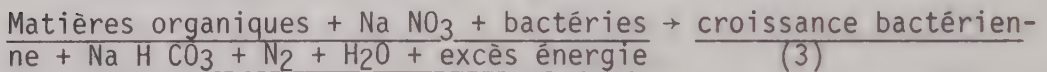
Dans un système aérobie la réaction (1) devient :



Les produits finaux du métabolisme aérobie sont tout d'abord le gaz carbonique et l'eau, les formes les plus stables du carbone et de l'hydrogène; c'est pourquoi l'effluent provenant d'un système d'épuration biologique aérobie sera stable si tous les microorganismes ont été éliminés, dans le but de stopper les réactions biochimiques.

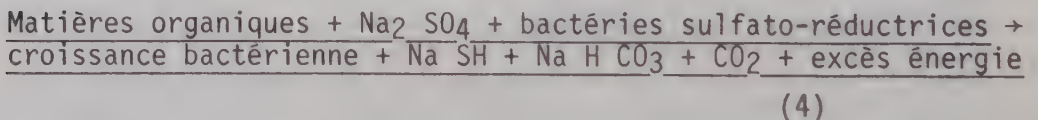
Dans un système anaérobie les microorganismes utilisent l'oxygène des matières organiques ou certains composés minéraux comme oxydant. Parmi les composés minéraux citons les nitrates, nitrites et sulfates qui sont les principales sources d'oxygène.

- L'utilisation de l'oxygène des nitrates s'effectue selon la réaction suivante :



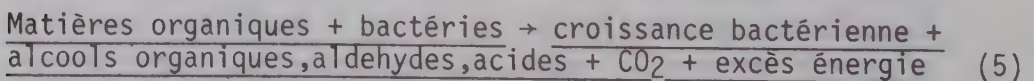
Par cette réaction de dénitrification on obtient le même type de produits finaux que par l'oxygène dissout à l'exception de l'azote et d'une alcalinité plus forte. Les nitrites subissent une réaction similaire.

- L'utilisation de l'oxygène des sulfates est le domaine des bactéries sulfato-réductrices :



Il faut signaler dans cette réaction que l'hydrosulfite de sodium (Na SH) en tant que produit final, possède une demande en oxygène, bien que la matière organique initiale ait été oxydée.

. Mais en outre, avec les matières organiques fonctionnant comme oxydants, nous obtenons le schéma suivant :



La plupart de l'énergie contenue dans les matières organiques qui ont été métabolisées se retrouve dans les produits finaux : alcools, aldehydes et acides; les réactions anaérobies ne sont donc pas capables de produire des effluents stables.

Il existe cependant un groupe de bactéries capables de produire du méthane à partir de ces produits finaux et de former ainsi un effluent stable, ce sont les bactéries méthanogènes :

Alcools, aldehydes, acides + bactéries méthanogènes → croissance bactérienne + méthane + CO₂ + excès énergie (6)

Le méthane très insoluble dans l'eau, diffuse de la phase aqueuse dans la phase gazeuse. On voit qu'en combinant les réactions (5 et 6) il est alors possible de produire un effluent stable. ANDREWS (7) a établi un modèle dynamique du processus de digestion anaérobie par les bactéries méthanogènes; son modèle est basé sur l'emploi d'une fonction d'inhibition à la vitesse de croissance des bactéries méthanogènes.

. D'autre part, le métabolisme endogène ou l'auto-oxydation du protoplasme des bactéries provoque un rejet de l'azote et du phosphore utilisés dans un premier temps dans la synthèse. L'azote et le phosphore rejetés peuvent être réutilisés de telle sorte que les besoins en azote et en phosphore sont liés à la durée du métabolisme endogène aussi bien qu'au métabolisme de synthèse. Du point de vue pratique, la demande en azote et en phosphore sera donc minimum dans les systèmes d'aération prolongée.

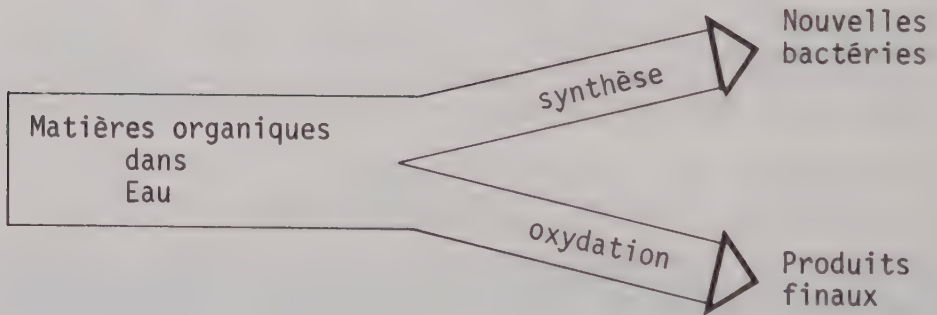
5) - STRUCTURE CHIMIQUE ET BIODEGRADABILITE

a) - La clé du métabolisme biologique se trouve dans la structure chimique des molécules organiques. Les molécules solubles dans l'eau ayant moins de douze atomes de carbone sont capables de traverser la paroi bactérienne avec l'aide d'enzymes type perméase et d'autres systèmes transporteurs. Les molécules à plus de douze atomes de carbone seront scindées en molécules plus petites. La solubilité des molécules dépend de la prédominance des groupes hydrophiles sur les groupes hydrophobes. Le métabolisme biologique commence en général par l'oxydation des groupements hydrophiles prédominants. Si nous prenons le cas des alcools, ils sont oxydés en aldehydes puis en acides. En utilisant de l'acide acétique marqué au carbone 14C, SMITH et MAH (152) ont montré que cet acide produisait 73% du méthane présent, dans le cas d'une digestion anaérobie; d'autre part, LANGLEY et DAVIS (96) ont montré que les bactéries aérobies transformaient les esters aliphatiques en alcools et acides identifiabiles par chromatographie en phase gazeuse. Ces acides sont en fait des inter-

médiaires du métabolisme biologique, une partie étant métabolisée en gaz carbonique et en eau afin d'obtenir l'énergie nécessaire à convertir le reste des acides en différents composants du protoplasme.

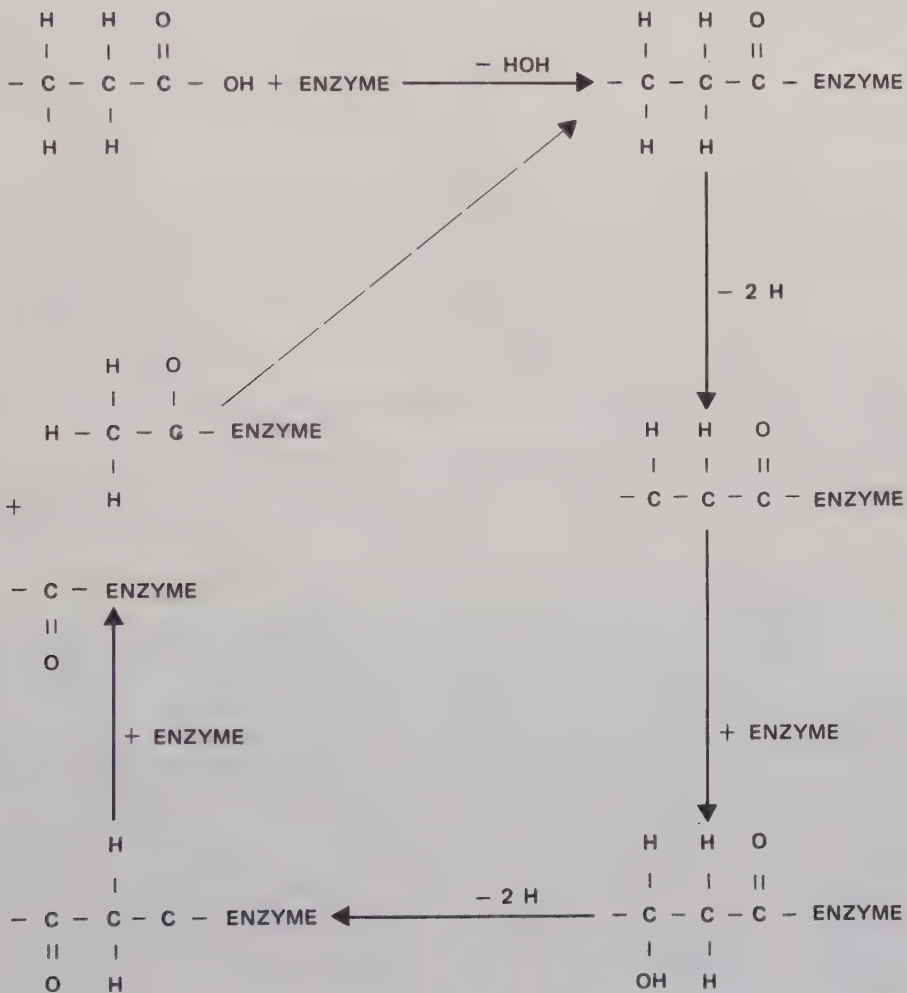
MALANEY et coll. (105) ont étudié le pouvoir oxydant de trois boues différentes sur les familles de produits chimiques suivants : acides monocarboxyliques saturés, acides hydroxy et cetodicarboxyliques saturés et non saturés, nitriles, amides, amines et aminoacides; ces travaux portent sur le temps de l'oxydation et sur les agents responsables de cette oxydation, ils montrent ainsi que 40% de l'acide formique et 41% de l'acide acétique présents sont oxydés en 24 heures et que la n-pentanamide, la n-butanamide par exemple sont oxydés par *Alcaligenes foecalis*.

b) - Une partie des matières organiques est utilisée pour la synthèse de nouvelles bactéries, l'autre partie fournira l'énergie nécessaire à la synthèse selon le schéma ci-dessous :



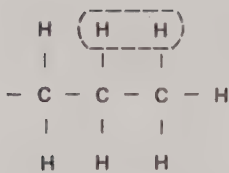
c) - Les composés organiques insolubles ont une prédominance en groupements hydrophobes par rapport aux groupements hydrophiles. Les groupements hydrophobes terminaux sont dissouts dans la partie lipidique de la paroi bactérienne, pour être ensuite oxydés en groupements carboxyles. Les acides gras complexes seront métabolisés selon la voie de la β oxydation de KNOPP, avec formation d'acétate actif d'un acide gras à nombre inférieur de carbone.

La β oxydation des acides gras par les bactéries est résumée par le schéma suivant :

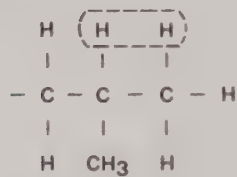


On voit par ce mécanisme que l'acide β carbonyl formé est facilement fractionné par les enzymes au sein des cellules pour donner de l'acétate actif et un acide gras qui subira à son tour une β oxydation jusqu'à ce qu'il soit complètement métabolisé.

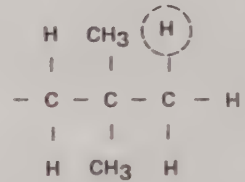
Dans le cas des chaînes de carbone ramifiées, le métabolisme bactérien est généralement retardé. Les composés organiques à chaîne linéaire sont plus facilement métabolisés que les composés à carbone secondaire; les composés à carbone tertiaire sont généralement très difficiles à métaboliser.



CHAINE LINEAIRE



CARBONE SECONDAIRE



CARBONE TERTIAIRE

La raison de ce retard dans la métabolisation réside dans la nécessité, pour les bactéries d'adapter leurs enzymes aux différentes ramifications. Les composés à carbone tertiaire ont une double branche qui requiert un fractionnement supplémentaire des molécules; plus les étapes du métabolisme sont complexes, plus la réaction biochimique est lente, car la vitesse de la réaction est une fonction de la concentration en enzymes dans la bactérie. En acclimatant les bactéries aux composés organiques à chaînes ramifiées il est possible d'obtenir des vitesses métaboliques plus grandes qu'avec les composés normaux. La clé du métabolisme dépend plus de l'acclimatation des bactéries que du composé organique en question.

d) - Il a été indiqué dans les premiers travaux de VAICUM (168) en 1965 que la mesure de l'activité enzymatique de certains indicateurs communément utilisés dans les traitements biologiques représente une méthode sensible dans les investigations sur les boues activées. Ainsi FORD et coll. ont montré par des essais en laboratoire et sur le terrain, l'intérêt de la deshydrogénase comme moyen analytique. KOTZE a étendu cette étude en analysant la plupart des systèmes enzymatiques intervenant dans le métabolisme du glucose et dans le cycle tricarboxylique. RASHID et coll. (136) précisent le temps d'acclimatation de la boue pour une source d'énergie donnée : dégradation du lactose en glucose et galactose par la β galactosidase.

NEGULESCU, VAICUM et GODEANU (117) ont montré que les valeurs de la catalase, d'une part, comme enzyme d'oxydo-réduction cellulaire, et de la dehydrolase d'autre part, varient de la même façon que l'efficacité de réduction des hydrocarbures et de la DCO.

L'analyse enzymatique fournit des résultats précis sur l'activité des boues activées, mais on peut compléter cette étude en testant la respiration globale de la boue au moyen d'un appareil de Warburg : à une activité enzymatique basse, correspond une respiration réduite.

6) - LES DIFFERENTS GERMES RENCONTRES DANS LES BOUES ACTIVEES

La place importante des bactéries dans les boues activées n'est plus à démontrer puisqu'elles constituent la base même de cet écosystème.

Dans un premier temps, nous envisagerons les souches présentes dans les boues activées non acclimatées; puis dans un deuxième temps, les bactéries des boues spécialisées.

Les différents travaux étudiant les populations bactériennes des boues activées ont apporté les précisions suivantes : les bactéries présentes dans le floc sont hétérogènes, limitées à quelques genres et cependant on retrouve toujours une espèce dominante. BUTTERFIELD (28) en 1935, le premier, a montré qu'une bactérie, *Zoogloae ramigera*, était l'espèce dominante et qu'elle était responsable de la formation du floc et de la stabilisation des déchets. HOWEVER, Mc KINNEY et WEICHLEIN (88) en 1953, isolèrent ensuite, à partir des boues, d'autres espèces appartenant à différents genres. Puis ALLEN (3) identifia des *Flavobacter*, des *Achromobacter* et des *Chromobacter*. Dans ces études on a démontré que les bactéries des boues activées naturelles tiraient leur origine de l'eau et du sel, et l'on notait alors une pré-

dominance du genre *Pseudomonas*. D'autre part, VAN GILLS (64) a montré que l'on rencontrait peu souvent *Achromobacter*, *Alcaligenes* et *Flauobacter* en même temps que les *Pseudomonas*. DIAS et BHAT (39) en 1964, ont décrits la présence de *Zoogloae* et *Comamonas* en grand nombre dans différents échantillons.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7
ACHROMOBACTER	0	0	2	3	5	2	0
AEROBACTER	0	0	0	3	0	0	0
ALCALIGENES	0	2	0	3	2	0	0
BACILLUS	0	5	0	0	2	0	0
BREUIBACTERIUM	5	0	0	0	0	0	0
CORYNEBACTERIUM	0	0	0	0	5	35	4
COMAMONAS	24	33	65	41	52	30	35
FLAUOBACTERIUM	2	2	2	0	0	0	4
MICROCOCCUS	2	2	2	5	2	7	0
PSEUDOMONAS	2	0	2	5	12	2	4
SPIRILLUM	2	0	0	0	0	0	0
ZOOGLOAE	61	56	19	41	19	23	54

TABLEAU I - Différentes bactéries présentes dans les boues activées selon DIAS et BHAT.

Ces mêmes auteurs (DIAS et BHAT) en 1965, ont montré que les coliformes représentaient un faible pourcentage dans la population bactérienne et qu'ils étaient peu actifs dans la purification (voir figure 2).

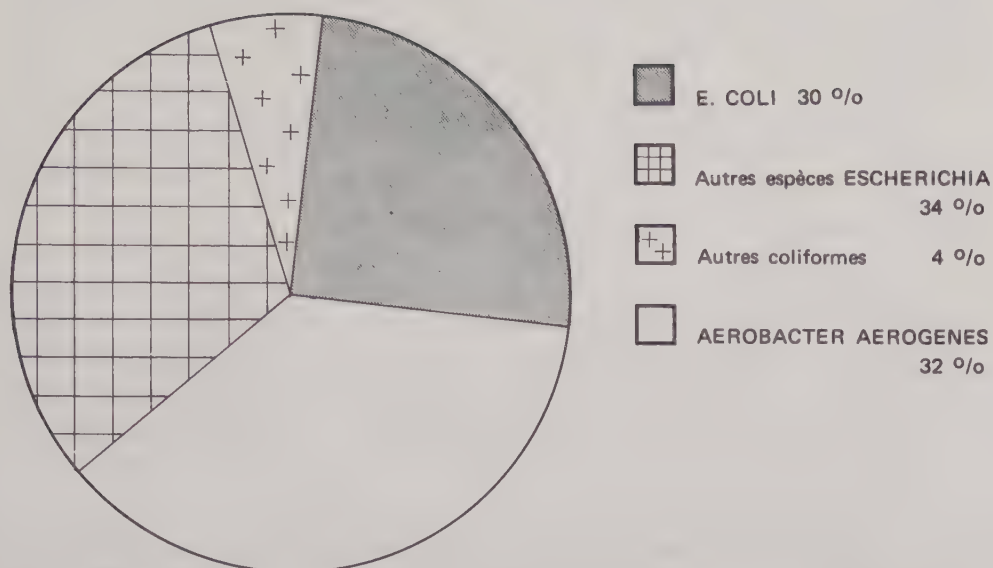


FIGURE 2 - Pourcentage de coliformes présents dans les boues activées.

D'autres auteurs ont étudié plus particulièrement le problème d'acclimatation des boues activées. PRAKASAM et NORMAN C. DONDERO (132) étudient la population bactérienne d'une boue de traitement industriel, puis remplacent les polluants par un milieu contenant des sels minéraux et du sorbitol; ils démontrent que d'une part, sur polluant synthétique on ne retrouve plus que six genres bactériens, d'autre part, que le glucose agit ici comme un répresseur du métabolisme du sorbitol; au contraire, les boues activées provenant des traitements industriels sont capables de métaboliser en même temps les deux substrats, glucose et sorbitol.

De la notion de boue acclimatée découle la notion de traitement spécialisé. L'épuration biologique s'est ainsi avérée efficace dans de nombreuses industries.

Au laboratoire, SCHOLZ (145) a montré que l'on pouvait dégrader les eaux résiduaires du cuir jusqu'à une DBO₅ de 70 mg/l avec un temps d'aération de 14 heures, il faut cependant, dans ce cas, effectuer une désintoxication chimique et une clarification préalable. NANACKOV et ZEREOVA (115) appliquent les principes de base de l'épuration biologique au trai-

tement des effluents contenant des caprolactames provenant d'une industrie de fibre synthétique. Les applications industrielles se multiplient de jour en jour; citons encore l'industrie laitière, les brasseries et les blanchisseries.

Un problème particulièrement intéressant est le traitement des eaux résiduaires des raffineries. NEGULESCU, VAICUM et GODEANU ont étudié la flore microbienne pour une eau résiduaire ayant la composition suivante en polluants :

Hydrocarbures	45 mg/l
acides naphthéniques	25 mg/l
acides sulfoniques	10 mg/l
D C O	650 mg/O ₂ /l
D B O ₅	80 mg.O ₂ /l
sels d'azote	30 mg/l d'N
sels de phosphore	6 mg/l de P

Les études bactériologiques leurs ont permis d'isoler relativement peu d'espèces différentes dans les boues activées : *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. liquefaciens*, *Ps. borcopolis*, *Achromobacter cycloclastes*, *Ach. iophagus*, *Ach. desmoliticus*, *Ach. salopius*, *Aspergillus* sp.

KUNICKI-GOLDFINGER et coll. (94) se sont intéressés au problème des boues activées synthétiques, en utilisant un polluant synthétique plus riche en phénol, mais moins riche en hydrocarbures et en acides naphthéniques. Le pool bactérien initial de boues synthétiques fut obtenu de deux façons : premièrement par l'adaptation de boues activées d'un égout contenant des déchets pétrochimiques et secondement à partir d'une microflore mélangée à une eau de rivière polluée. Après une adaptation de plusieurs mois, ils isolèrent les souches suivantes : une majorité de *Pseudomonadales* 79% dont 29% de *Ps. putida*; puis quelques souches d'*Alginomonas* sp., *Arthrobacter* sp. et deux espèces ressemblant aux *Zoogloae*. Les souches Gram positif furent pratiquement inexistantes.

De l'étude de la population bactérienne des boues découlent les notions suivantes :

- on trouve toujours une espèce dominante
- les genres les plus fréquents sont les *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Comamonas* et *Zoogloae*. Ils constituent 95% de la population (GANN (59)).
- dans le cas d'une boue synthétique adaptée à un polluant donné, le nombre de genres de bactéries est peu important.

En résumé : Les mécanismes biologiques d'épuration par le processus des boues activées sont très discutés. Certains auteurs penchent pour l'hypothèse d'une certaine stabilité de la microfaune, d'autres au contraire affirment une évolution continue des microorganismes responsables de l'épuration. Une partie de notre étude sera consacrée à vérifier ces théories contradictoires.

D'autre part, l'étude sur un polluant chimique unique, ne peut être significative, car en fait une bactérie peut suffire à dégrader un polluant. Mais les boues activées constituent toujours une biocénose et le développement d'une espèce dominante spécifiquement active sur une matière organique est bien souvent contrariée, lorsqu'il existe dans l'eau usée plusieurs sources de pollution chimique, et c'est ainsi dans la majorité des cas.

L'essai d'épuration du DMSO se fera non pas à partir d'une solution ne contenant que les substances minérales nécessaires au métabolisme, mais avec une eau polluée artificiellement par un mélange de phénol et de DMSO. Nous avons choisi le phénol car il est fréquemment rencontré dans les effluents des raffineries, et les conditions réelles d'épuration du DMSO seront bien mieux reproduites.

Nous poursuivrons donc notre étude bibliographique en considérant principalement les propriétés de ces deux corps ainsi que leurs réactions vis-à-vis des bactéries.

CHAPITRE III

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE PARTICULIERE DU PHENOL ET DU DMSO

Ce présent chapitre portera, d'une part, sur l'étude des techniques d'épuration des effluents contenant du phénol, et d'autre part, sur l'étude du DMSO. On cherchera à dégager, à partir de nos références bibliographiques, les souches permettant la dégradation de ces deux polluants.

TRAITEMENT DES EAUX CONTENANT DU PHENOL

I - GENERALITES

La législation française actuelle interdit tout déversement des substances phénoliques dans les eaux collectives. Les premiers termes de la série, le phénol et les crésols sont en effet toxiques. D'autre part, on sait qu'en présence de phénols, l'épuration par le chlore ou les hypochlorites aboutit à la formation des chlorophénols dont la saveur désagréable est est encore perceptible à la dose de 1 microgramme par litre.

Or les fabriques de produits chimiques et de résines phénoliques (bakélites) rejettent des eaux qui contiennent environ 4 g pour 1000 de phénol; les usines à gaz et les cokeries, des eaux ammoniacales, qui en renferment 2 à 4 %.

Les concentrations léthales pour l'animal sont :

- | | |
|----------------------------|---------------------|
| - pour le phénol | : 25 à 27 ppm |
| - pour le formol | : 0,063 à 0,066 ppm |
| - pour le mélange des deux | : 0,93 ppm |

Les industries de la cellulose et des pâtes à papier éliminent des dérivés phénoliques. Il s'agit de la vanilline, de

l'acide vanilique et de l'acide p-oxy-cinnamique par dégradation de la lignine du bois. Quoique de toxicité insignifiante, les liqueurs résiduelles de délignification tombent également sous le coup de l'interdiction.

II - TRAITEMENT PAR VOIE BIOLOGIQUE

1) - Etude des possibilités de biodégradation du phénol

Le phénol est dangereux à cause des graves perturbations qu'il est susceptible de provoquer dans le milieu aquatique. A la concentration de 1 ppm il est toxique pour les poissons. A des concentrations plus importantes, sa toxicité apparaît vis-à-vis des microorganismes épurateurs : bactéries, champignons, algues, protozoaires, mollusques, etc... Il en résulte un ralentissement considérable et même quelquefois un arrêt des processus naturels d'épuration biologique.

Il est donc indispensable de limiter les rejets de ce produit en essayant soit de le récupérer par des procédés chimiques à l'usine, soit de l'éliminer au moyen d'un traitement physique, chimique ou biologique.

Malgré ses propriétés bactériostatiques et bactéricides, le phénol, comme d'ailleurs toutes les substances aromatiques, joue un rôle dans le cycle naturel du carbone.

Il existe une possibilité de destruction biologique du noyau benzénique. Cette attaque est en général lente et le fait de microorganismes particuliers (Pseudomonodaceae et Actinomycétales).

Facteurs biologiques

A partir de divers milieux (terre, vase, effluents divers, cours d'eau) il est possible de sélectionner des microorganismes capables de résister à d'importantes concentrations en phénol et de le métaboliser. La plupart des espèces isolées appartiennent à la famille des Pseudomonodaceae.

Il paraît possible d'adapter des microorganismes banaux tels que ceux rencontrés dans les eaux urbaines, mais les processus d'adaptation sont longs et semblent n'avoir lieu qu'en l'absence de substances classiques facilement biodégradables.

Les essais d'épuration en laboratoire de type "boues actives" montrent qu'une flore adaptée est capable, dans certaines conditions, de biodégrader un effluent synthétique équilibré contenant du phénol à la concentration de 750 ppm.

Le pourcentage d'élimination du phénol est de 99,8% et sa concentration dans l'effluent de sortie est en moyenne de 1 ppm. D'après nos travaux personnels, nous verrons par la suite que dans certaines conditions on peut obtenir des concentrations inférieures. Lorsqu'on étudie l'écologie de la "boue activée", on constate que certaines souches ensemencées disparaissent. On note un développement considérable de 3 souches de PSEUDOMONAS et d'une souche de CHROMOBACTERIUM associées avec d'autres microorganismes (algues, protozoaires).

Si à l'effluent phénolé on adjoint à débit égal un effluent urbain classique non stérilisé, on constate une nette baisse des rendements d'épuration, bien que la concentration en toxique soit toujours approximativement identique (750 ppm). Dans ce cas, le pourcentage d'élimination du phénol n'est plus que de 90% et la concentration de l'effluent de sortie est de 40 ppm environ. Cette chute de rendement est due à une modification de la flore et de la faune du milieu. On note en effet une régression importante des espèces adaptées à la métabolisation du phénol et même leur disparition progressive. Il se développe simultanément des espèces banales responsables de la biodégradation des substances facilement fermentescibles de l'eau d'égout. Ces espèces se multiplient très rapidement, et, par suite d'un phénomène de concurrence vitale, tendent à supplanter les espèces capables de biodégrader le toxique. Il est d'ailleurs possible qu'en présence d'aliments faciles à biodégrader, les espèces sélectionnées perdent leur adaptation.

BREBION et coll. (22) donnent les conclusions suivantes :

- 1°) Le traitement par voie biologique d'un effluent industriel renfermant du phénol jusqu'à une concentration de 750 ppm permet l'élimination de ce toxique avec un rendement voisin de 100%.
- 2°) Le traitement par voie biologique d'un effluent mixte (eau urbaine et eau industrielle renfermant du phénol) ne peut être entrepris avant une étude préalable permettant de déterminer le rapport : charge polluante industrielle/charge polluante urbaine, à ne pas dépasser si l'on veut obtenir l'élimination du toxique. Cette étude doit être suffisamment longue (2 ou 3 mois) pour être sûre que l'installation est bien stabilisée. Il faut obtenir en effet un certain équilibre entre les microorganismes capables de métaboliser le phénol et ceux présents normalement dans l'eau d'égout. Des déterminations rapprochées de l'évaluation des rendements permettront de s'assurer que l'équilibre est atteint.

2) - Etude en laboratoire de l'épuration mixte d'effluents urbains et industriels renfermant du phénol

BREBION et coll. (21) ont montré qu'une flore adaptée est capable de métaboliser le phénol d'un effluent industriel.

Dans tous les cas, soit qu'il s'agisse de l'introduction d'un effluent urbain dans une station industrielle traitant des eaux phénolées, soit que l'on admette un effluent renfermant du phénol dans une station urbaine d'épuration, il y a modification profonde de la flore épuratrice. On observe toujours une diminution des rendements d'élimination du phénol, si on les compare à ceux obtenus sur l'installation industrielle conçue pour le traitement des eaux phénolées.

Dans le cas d'un effluent urbain se déversant dans une station traitant les eaux phénolées, certains microorganismes adaptés disparaissent progressivement, car ils sont en concurrence avec des souches banales se développant plus rapidement aux dépens de matières organiques facilement biodégradables.

Dans le cas d'un effluent renfermant du phénol se déversant dans une station urbaine, on observe l'apparition de souches capables de biodégrader les phénols.

En fait, il paraît possible d'utiliser l'épuration mixte, après une étude préalable tenant compte respectivement des charges industrielles et urbaines. La concentration en phénol de l'effluent mixte doit être très fortement diminuée, et devient le facteur primordial pour obtenir un taux d'épuration satisfaisant.

3) - Différentes possibilités d'épuration

1°) - Les eaux phénolées extraites au benzène ou avec des huiles contiennent encore des quantités de phénol très importantes par rapport à la limite admise pour les eaux de boissons : 0,001 ppm.

Par exemple, un procédé décrit par l'Universal Oil Products Cie, utilise pour le dessalage d'une huile brute en raffinerie, une eau souillée de phénol. L'hydrogénation de la fraction d'huile contenant le phénol permet ensuite de se débarrasser de celui-ci. Néanmoins, l'eau résiduaire finale contient encore 15 ppm de phénol (0,015 g au litre) ce qui constitue un très bon résultat mais signifie que cette eau doit être rejetée dans un milieu naturel capable de la diluer au moins 15.000 fois pour être acceptable par ce milieu.

2°) - Certains auteurs soviétiques ont essayé l'action des ultra-sons pour détruire le phénol dans l'eau. Ils ont mis en évidence les divers procédés de destruction dont l'un est à rapprocher du processus de destruction du phénol par les bactéries aérobies, mais ne semblent pas être parvenus à des résultats pratiques puisque partant d'une solution à 48 ppm ils n'en détruisent que 98%. Il reste donc encore environ 1 ppm.

3°) - Il a été proposé, pour résoudre le problème, de transformer par action du chlore le phénol en trichlorophénol très peu soluble dans l'eau. En partant d'un échantillon contenant 31 ppm de trichlorophénol on arrive, en cinq extractions, au benzène à 0,007 ppm, en six extractions, à 0,0005 ppm, ce qui serait donc parfait. Le procédé serait applicable aux eaux résiduelles des cokeries.

4°) - L'ozone n'est pas un excellent agent de traitement puisqu'une eau contenant 100 ppm en contient encore 0,4 ppm ou 0,1 ppm respectivement après traitement avec 180 ou 200 ppm d'ozone. Pour détruire 1 g de phénol, il faut donc dépenser 2 g d'ozone. De plus, l'ozone ne détruit pas les chlorophénols.

5°) - L'un des traitements les plus efficaces semble être celui au bioxyde de chlore qui permet d'oxyder non seulement les phénols, mais aussi les chlorophénols. On introduit le chlore et le chlorite de sodium $\text{Cl O}_2 \text{ Na}$ dans de l'eau à traiter à l'aide de doseurs et la réaction de formation du bioxyde de chlore se produit in situ :



Le problème de la destruction des phénols dans les eaux résiduelles est donc l'un des plus difficiles à résoudre économiquement d'une manière satisfaisante.

4) - Exemple de traitement

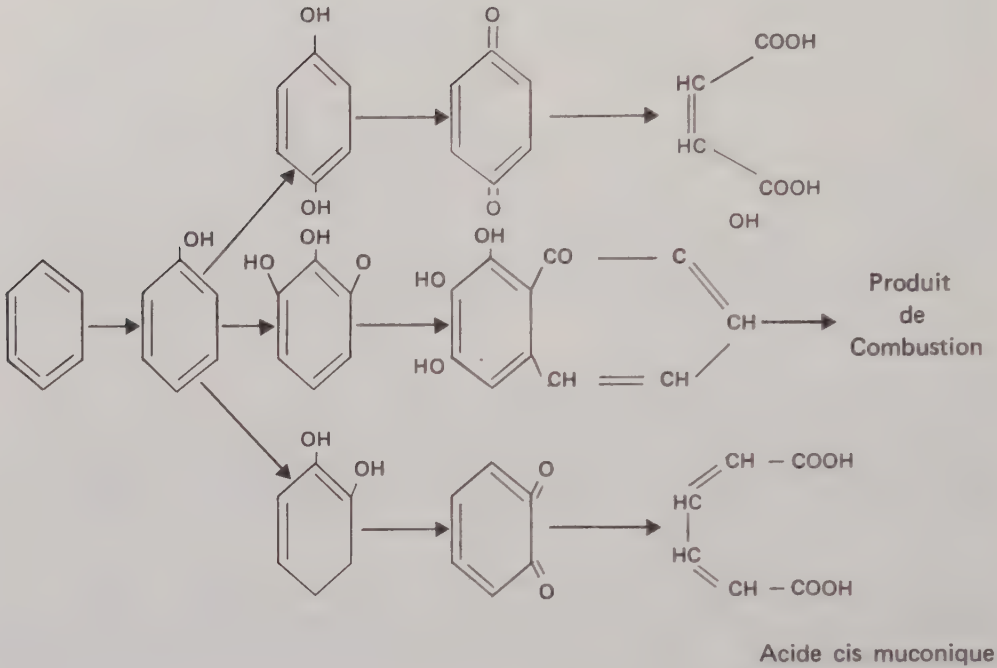
Au Canada, Mc PHEE et SMITH (124) ont réalisé une installation d'épuration d'eaux résiduelles de raffinerie qui donne entière satisfaction en ce qui concerne les phénols.

Les données du problème étaient les suivantes :

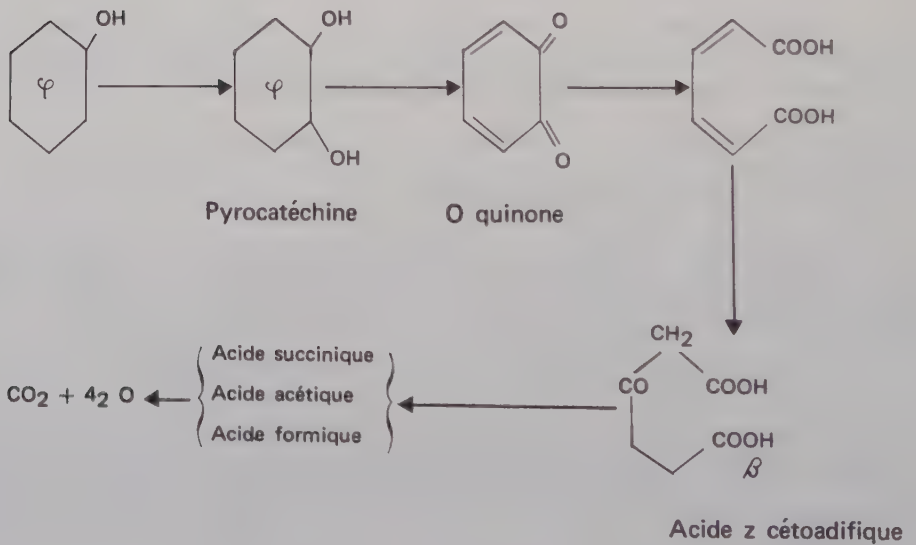
- la Société "Cities Service Oil Company Limited" de TORONTO avait choisi la ville de TRAFALGAR comme site pour l'édification d'une raffinerie produisant 3.500 tonnes par jour de pétrole brut.

OXYDATION ULTRASONIQUE DU PHENOL

figure 3



DEGRADATION DU PHENOL PAR LES BACTERIES AEROBIES



- Les rejets devaient être exempts de toute trace de phénols afin de ne pas réagir avec le chlore utilisé pour la stérilisation des eaux municipales.

- Il n'était pas possible d'envisager des facteurs secondaires de dilution.

Une épuration très poussée était donc indispensable. Il n'était pas possible de se contenter simplement d'effectuer une séparation des huiles, ni d'envisager un mélange des eaux résiduaires avec les eaux de refroidissement pour réaliser une dilution des titres en excès.

Le traitement retenu fut donc le suivant :

- 1 - Stripping - Désulfuration et élimination de l'ammoniaque.
- 2 - Séparation des huiles.
- 3 - Ajustement du pH.
- 4 - Ajustement de la température.
- 5 - Coagulation chimique et précipitation.
- 6 - Oxydation biologique en deux étapes.
- 7 - Décantation finale.
- 8 - Ozonation.
- 9 - Adsorption
- 10 - Filtration.

Les résultats obtenus furent excellents sur le plan technique; l'effluent était exempt de toute trace de phénol, donc ne put donner naissance à des chlorophénols, mais il ne faut pas oublier que sur le plan financier, si le traitement par les boues activées est d'un prix de revient relativement bas, celui par ozonation, par contre, est très élevé.

En résumé, le traitement des eaux contenant du phénol est loin d'être un problème facile. Il existe un grand nombre de cas où le traitement au bioxyde de chlore peut suffire pour éliminer le produit toxique. Dans d'autres cas, une épuration biologique est justifiée. Cependant il y a lieu de l'étudier avec soin, en tenant compte de la spécificité de la flore qui n'est pas comparable à celle des eaux d'égout.

Enfin, dans certains cas, une chaîne complète mettant en oeuvre des procédés physiques, chimiques et biologiques est nécessaire, notamment lorsqu'il s'agit de traiter des effluents de raffineries.

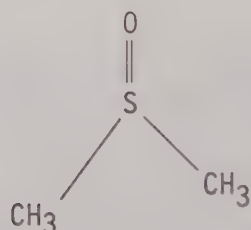
ETUDE DU D.M.S.O.

Le Diméthyl sulfoxyde (D.M.S.O.) s'avère non seulement comme un produit organique nouveau, mais également comme une thérapeutique nouvelle. Il trouve en effet une application aussi bien en médecine, en art dentaire, en médecine vétérinaire, en agriculture et comme réactif de base au laboratoire. Du point de vue pharmacologique, le DMSO favorise la pénétration cellulaire d'un médicament, peut bloquer l'influx nerveux, présente des effets anti-inflammatoires, anti-cholinestérasiqes, vasodilatateurs, bactériostatiques, arrête le phénomène de Schwartzmann et solubilise de collagène.

Nous limiterons notre étude à l'intérêt industriel du DMSO. L'utilisation en chimie organique est dans une large mesure le résultat de ses propriétés étendues de solvant et de sa réactivité chimique particulière (AGAMI, 1965 (2)).

I - Structure et propriétés physico-chimiques

Le DMSO est une molécule à structure pyramidale avec un atome de soufre, d'oxygène et des atomes de carbone aux angles.



- La liaison soufre-oxygène est entièrement polaire si bien que la solution présente une forte constante diélectrique, comme l'a montré LINDBERG (103), la polarité et la disposition spatiale de la molécule entraînent la formation d'un dipole, si bien qu'en solution le DMSO se trouve sous forme de longues chaînes. Ces phénomènes liés à la structure et ces forces d'attraction entraînent un point élevé de fusion, une entropie de fusion basse, un point d'ébullition relativement haut et une forte entropie de vaporisation.

- La constante diélectrique est un tiers supérieure à celle du méthanol, et cette différence permet de séparer ou de solubiliser des molécules ionisées polaires. SEARS et ses collaborateurs (148) ont étudié la conductivité de 19 sels en solution dans le DMSO et ils ont montré que tout était complètement dissocié à une concentration inférieure à 10^{-3} moles par

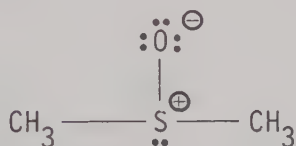
litre. A cause de cette constante diélectrique élevée, le DMSO sera un très bon solvant industriel, et en particulier dans l'industrie pétrolière où il permet d'extraire sélectivement les hydrocarbures aromatiques en C₆ et C₈.

- L'atome de soufre constitue la charge positive du dipole, et l'atome d'oxygène la charge négative; la charge positive entraîne une activation des atomes d'hydrogène du groupement méthyl. Les atomes d'hydrogène ne pourront pratiquement pas se déplacer dans les réactions à radicaux libres et par conséquent le DMSO sera très employé comme solvant dans les polymérisations des oléfines.

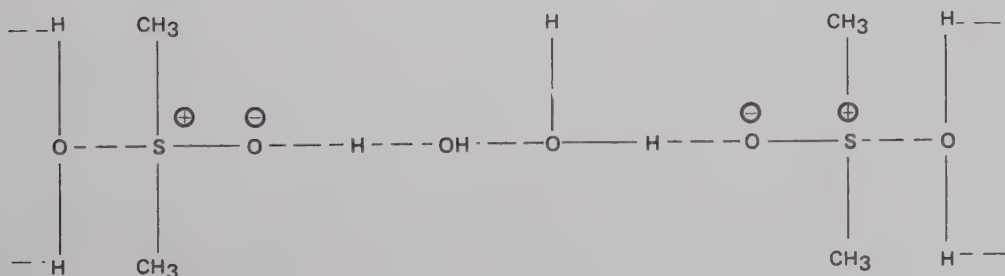
II - Etude du DMSO dans un système biologique

1) Le DMSO en tant que solvant dans un système biologique

Nous avons vu dans le chapitre précédent que le DMSO était un solvant dipolaire. En solution pure, le DMSO est associé en dipoles et possède une structure propre, mais cette association est thermolabile entre 40° et 60°.



Le DMSO est extrêmement hygroscopique et miscible à l'eau dans toute proportion; il est probable qu'il prenne alors une forme hydratée ayant la structure suivante :



Le DMSO traverse la paroi cellulaire et se concentre rapidement dans la cellule. La partie protéinique de cette barrière a une structure entourée de molécules d'eau, et l'on pense que lors de sa pénétration dans la cellule le DMSO se substitue aux molécules d'eau. HAMAGUCHI en 1964 (68) a montré que le DMSO entraînait une déformation de la structure des protéines et en particulier des enzymes comme le lysosyme, dans une concentration de 60 à 70 volumes pour cent. C'est un phénomène réversible qui a été démontré par INAGAMI et STURTEVANT en 1959 (18), puis par RAMMLER en 1966 (134). Ces observations ont permis d'émettre l'hypothèse du mode d'action du DMSO :

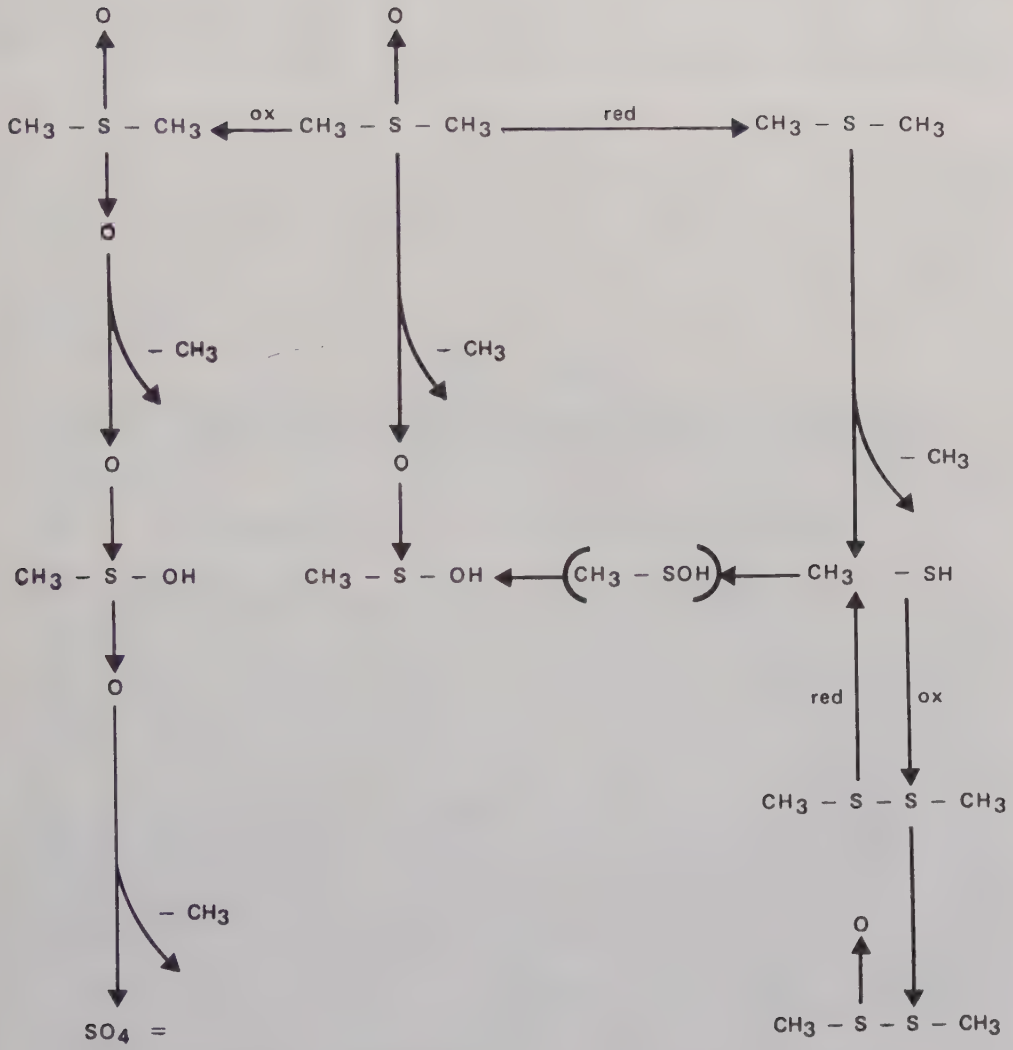
- l'eau est le principal constituant des cellules; les formes natives de biopolymères, tels que les protéines, les polysaccharides et les acides nucléiques sont entourés de molécules d'eau dans un ordre déterminé. Le DMSO se lierait aux molécules d'eau, donnerait sa forme hydratée et pourrait ainsi s'introduire à l'intérieur de la cellule.

2) Métabolisme du DMSO

Le DMSO est utilisé de façon non spécifique par la cellule qui peut l'oxyder. Le métabolisme du DMSO est en fait mal connu.

ANDO et coll., en 1957 (6) ont montré que le DMSO pouvait être réduit en D.M.S., ou diméthyl sulfure, par des bactéries sous des conditions spéciales d'anaérobiose. Chez l'homme (GERHARD 1965 (62)) et chez l'animal (THROOP 1964 (162)) ont identifié du DMS et du DMSO, ou diméthyl sulfure, comme métabolite du DMSO.

L'incapacité d'accumuler du DMSO chez les animaux suggère que le squelette carboné est partiellement métabolisé par les mammifères selon le schéma suivant (KOLB 1966 (93)) :



Ce schéma montre que dans le cas d'une dégradation complète, le DMSO peut être transformé en sulfate. Toutes ces réactions demandent du NAD ou du NADP ou leurs formes réduites comme système RED-OX. Par ces réactions d'oxydo-réduction on aboutit à de grandes concentrations cellulaires en DMSO. Dans le schéma on voit également de nombreux transferts du groupement méthyl, mais ici il faut envisager deux possibilités, ou bien le groupement méthyl est dégradé par oxydation, ou bien le DMSO agit en tant que donneur de groupement méthyl.

ROBERTS et coll. en 1957 (139) ont utilisé les bactéries pour étudier le métabolisme intermédiaire du DMSO. De tels systèmes offrent en outre l'avantage de donner des mutants nutritionnels qui facilitent beaucoup l'étude des séquences métaboliques.

III - Données bactériologiques DMSO et bactéries

Le DMSO sera pour certaines souches un facteur de croissance, pour d'autres il sera bactériostatique.

1) Le DMSO en tant que facteur de croissance

Pour cette étude, RAMMLER et coll. (134) ont choisi une souche d'*Aerobacter aerogenes* (ATCC - 9621). Cette bactérie utilise le DMSO₂, le DMSO et le DMS comme source de carbone par sa croissance en présence d'un milieu minimum à base de sels et de glycérol. Il faut signaler cependant que le DMSO₂ est métabolisé préférentiellement au DMSO et au DMS.

RAMMLER et coll. (134) ont montré que si on donne du DMSO comme seule source de soufre à un mutant d'*Aerobacter aerogenes* qui ne peut pas convertir le sulfate en thiosulfate, il n'y a pas de croissance au bout de 36 heures; ces expériences ont montré que le DMSO est transformé en sulfate par le type sauvage, et qu'il sert de source de soufre à la cellule, mais ce soufre n'est pas utilisé par le mutant.

D'autre part, le DMSO et le DMS sont oxydés en DMSO₂ qui est rapidement utilisé par la cellule; il faut signaler cependant que cette oxydation peut provenir de l'oxygène présent dans le milieu de culture : dans ce cas l'oxydation du DMS en DMSO₂ aurait bien comme intermédiaire le DMSO.

ANDO et coll. (6) ont montré en 1957 par chromatographie en phase gazeuse que le DMSO_2 pouvait être réduit par une bactérie type E.coli. Les auteurs ont obtenu les résultats suivants :

DMSO dosé par chromatographie en phase gazeuse

en milieu DMS	0
en milieu DMSO	DMS +
en milieu DMSO_2	DMS +

La raison de cette activité réductrice n'est pas connue.

RAMMLER et coll. (135) ont montré en 1964 que le DMSO était utilisé par la bactérie selon une voie oxydative; en utilisant du DMSO marqué au ^{14}C , les auteurs ont montré que l'on retrouvait le carbone incorporé dans les acides nucléiques, sous forme de formiate dans les purines, et comme groupement méthyl dans le RNA.

Ces études métaboliques nous montrent que pour certaines souches spécialisées, le DMSO apparaît comme un facteur de croissance, mais dans d'autres cas que nous allons envisager, le DMSO apparaît comme un puissant bactériostatique.

2) Le DMSO en tant qu'agent bactériostatique

Le rôle du DMSO en tant que bactériostatique et bactéricide a été l'objet de nombreuses recherches. Le DMSO s'est révélé bactériostatique pour des souches d'*Escherichia coli*, des *Staphylocoques dorés* et des *Pseudomonas* à la concentration de 10%, et pour le bacille tuberculeux à la concentration de 5%, (JACOB 1964 (79)). Le DMSO s'est révélé comme étant également antifongique.

Les différents résultats sont résumés dans le tableau II.

D'autres auteurs ont montré que l'association pénicilline-DMSO était active contre des germes pénicillino-résistants : le DMSO agirait en neutralisant la pénicillinase.

Cette revue bibliographique nous montre que le DMSO est soit un facteur de croissance, soit un agent bactériostatique. Sur le plan industriel, le DMSO devrait donc pouvoir être dégradé par des bactéries type *Aerobacter aerogenes*, mais il ne faut pas oublier que dans une station de traitement biologique, le DMSO pourra détruire certains germes capables de dégrader d'autres polluants.

Pourcentage de D.M.S.O.	0	1	4	5	10	20	30	40	50	60
<i>Escherichia coli</i>	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-	-
<i>Aerobacter cloacae</i>	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	-	-	-
<i>Staph. aureus</i>	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-	-
<i>Strepto. pyogenes</i>	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-	-	-
<i>Strepto. faecalis</i>	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	-	-	-
<i>Salmonella schottmulleri</i>	++++	++++	++++	++++	++	++	-	-	-	-
<i>Diflococcus pneumoniae</i>	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	++++	++++	++++	++++	+	+	-	-	-	-

+ = croissance

- = absence de croissance

TABLEAU II - Etude du pouvoir bactériostatique du DMSO sur différents germes.

Conclusion :

A l'issue de ce troisième chapitre, il devient possible de déterminer le plan de l'étude.

Dans un premier temps, sur une boue activée déjà acclimatée provenant d'un bassin d'aération traitant de l'eau de raffinerie contenant du phénol, nous pourrions étudier la dégradation de ce produit, afin de tester l'appareillage et le pouvoir épurateur des boues activées.

Dans un deuxième temps, du DMSO sera ajouté, sans modification spéciale de la boue activée. Théoriquement, le DMSO ne sera pas métaboliser. Nous étudierons, dans ces conditions, l'épuration du phénol.

Dans un dernier temps nous ajouterons aux boues activées, la souche d'*Aerobacter aerogenes* capable, selon la littérature, de dégrader le DMSO. Nous suivrons parallèlement la dégradation du phénol et du DMSO grâce à des techniques physico-chimiques.

Des analyses de la population bactérienne seront effectuées, afin de suivre l'évolution éventuelle des espèces.

Pour réaliser ce travail, il était nécessaire de construire un appareillage particulier, un pilote de laboratoire. Nous terminerons donc cette première partie par l'étude bibliographique des pilotes.

CHAPITRE IV

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DES PILOTES

CONCEPTION ET CONSTRUCTION D'UNE INSTALLATION DE LABORATOIRE UTILISANT LE PROCÉDE MIXTE D'AERATION ET D'AGITATION DES BOUES ACTIVEES

1 - Introduction

Afin de concevoir une installation de laboratoire pour étudier l'épuration des eaux grâce au procédé des boues activées, il est nécessaire préalablement de bien connaître les paramètres entrant en jeu. Beaucoup d'études ont été effectuées dans ce but. Ces résultats ont été exposés dans des ouvrages généraux tels que Water and Water Engineering et Manual on disposal of Refinery wastes publiés par l'American Petroleum Institute.

2 - Paramètres entrant en jeu dans le procédé des boues activées

2-1) Substances nécessaires au métabolisme

L'azote et le phosphore sont des substances minérales qui entrent dans la composition du protoplasme. D'autres éléments tels que le soufre, le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium, le fer et le molybdène peuvent exister à l'état de trace dans le protoplasme.

La quantité de substances nutritives (azote et phosphore) nécessaires à la synthèse du protoplasme est fonction croissante de la synthèse microbienne. De ce fait, le procédé mixte des boues activées a une demande en azote et en phosphore relativement importante.

Pour SAWYER (143), le rapport idéal entre ces substances exprimées dans la même unité, doit être compris entre :

$$\text{DBO} : \text{N} : \text{P} = 150 : 5 : 1 \quad \text{et} \quad \text{DBO} : \text{N} : \text{P} = 90 : 5 : 1$$

L'importance de ces substances nutritives en regard du métabolisme est telle que GAUDY, GOEL et FREEDMAN (61) ont imaginé un équipement spécial pour traiter les effluents pauvres en azote. De l'azote, sous forme d'ammoniaque, par exemple, est ajouté aux boues extraites du décanteur. Ces boues sont aérées avant d'être recyclées dans le bassin d'aération. C'est une modification du procédé de stabilisation par contact.

2-2) Homogénéisation de l'eau usée dans le bassin d'aération

La vitesse de purification d'une eau usée est fonction à la fois de la concentration en substances à éliminer et de l'affinité des microorganismes pour ces substances.

Ainsi, dans un bassin d'aération de forme rectangulaire long et étroit, l'écoulement de l'eau serait du type piston, et les substances nutritives seraient éliminées dès l'entrée du bassin et le gradient de la vitesse d'élimination des matières organiques (mesuré par l'élimination de la DBO par exemple) serait décroissant tout au long du bassin d'aération.

Cette remarque montre la nécessité d'agiter le contenu du bassin d'aération afin de répartir les substances nutritives et d'avoir une vitesse de purification constante dans l'ensemble du volume aéré.

2-3) Temps de rétention dans le bassin d'aération

Le traitement biologique dépend de la durée du processus. De ce fait les vitesses de réaction sont de bonnes références pour comparer les vitesses d'élimination globale ou spécifique de certains produits, dans différents systèmes de traitement.

La durée du traitement en heures dans les unités de boues activées se calcule d'après le rapport :

$$\frac{\text{Volume du réservoir d'aération en m}^3/\text{h}}{\text{Débit d'eau à traiter}}$$

Débit d'eau à traiter

En effet, le premier représente mieux la moyenne du temps théorique durant lequel un élément de l'eau à traiter est en contact avec les boues activées dans le bassin d'aération.

Le temps de rétention, dans le bassin d'aération, agit sur la qualité de l'effluent et sur la stabilisation des boues activées car les phases de synthèse et de métabolisme endogène sont liées au facteur temps, comme le montre très explicitement la figure 4.

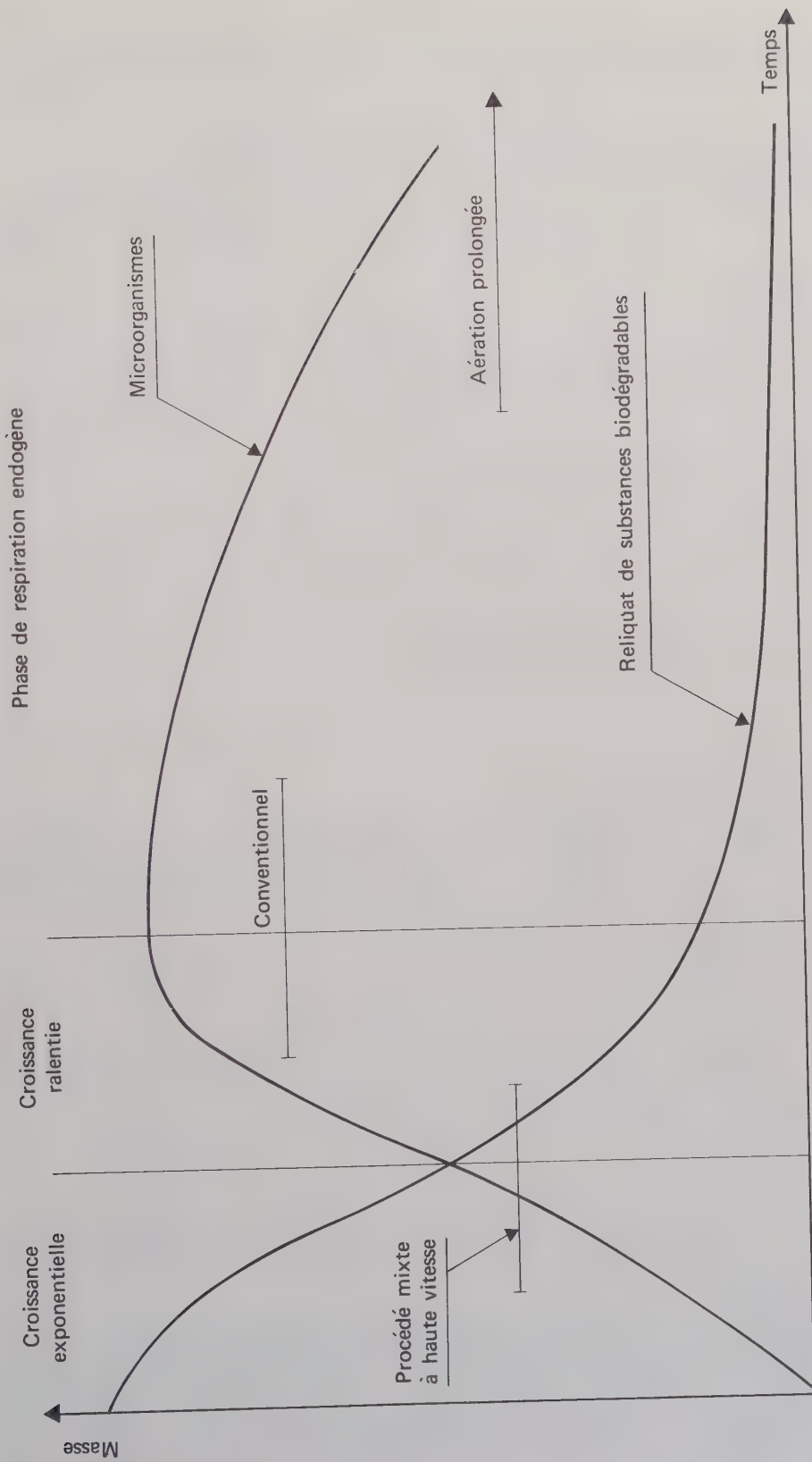


fig. 4 - Différentes phases de croissance des microorganismes présents dans les boues activées

On distingue sur cette courbe trois phases :

- a) la phase de synthèse
- b) la phase de croissance ralentie
- c) la phase de respiration endogène.

Ces trois phases peuvent être représentées mathématiquement de la façon suivante :

a) phase de synthèse

$$y_s = \frac{L}{y'} (1 - \exp(-kt))$$

b) phase de croissance ralentie

$$y_c = \frac{L}{y'} (1 - nk_0 t)^{-\frac{1}{4}}$$

c) phase de respiration endogène

$$y_r = \frac{L}{y'} (1 + m)^{-1} - (1 + m) \exp(kt)^{-1}$$

où y = masse biologique développée au temps t . Les indices s, c, r , décrivent les différentes phases de la croissance, L = limite maximale de la phase stationnaire de la courbe de croissance des microorganismes,

$y' = \frac{dy}{ds}$ vitesse de synthèse des boues activées à partir du substrat S ,

k = constante de réaction, qui peut être constante tout au long de la réaction au commencer à k_0 et être modifiée par les coefficients n ou m lorsque la réaction se poursuit.

2-4) Température

L'effet de la température sur la vitesse de purification suit la loi d'Arrhenius qui est une loi de croissance exponentielle jusqu'à 37°C.

Mais au-dessus de 37°C, la vitesse de purification décroît brutalement. En effet, au-dessus de cette température, la plupart des protéines sont détruites et par conséquent les microorganismes.

Cependant, un groupe de bactéries dites thermophiles peut se développer jusqu'à des températures de 70°C. La vitesse re-

lative du métabolisme, l'existence des groupes mesophiles ou thermophiles sont exprimées en fonction de la température sur la figure 5.

La température est donc un facteur très important dans les procédés d'épuration biologique et les écarts de température peuvent affecter momentanément la qualité des effluents en dérégulant le métabolisme de certaines bactéries.

Ainsi, ERICKSON et KNOPP (51) ont montré que l'utilisation des boues activées à des températures avoisinant 39°C donnait des rendements excellents, quant à la réduction du taux de la DBO (4 kg par kg de matières volatiles en suspension). A cette température, la fraction non biodégradable était abaissée jusqu'à 7% environ.

De même, ROGOVSKAJA, LAZAVERA et KOSTINA (141) ont obtenus des résultats semblables. D'après ces auteurs, l'activité enzymatique des boues est fonction croissante de la température jusqu'à 38°C. En revanche, le nombre d'espèces présentes dans les boues activées, le taux de croissance des boues et le facteur décantabilité mesuré par le S.V.I. (Sludge volume index) décroissent lorsque la température croît.

2-5) Puissance utile dissipée

Pour accélérer le transfert entre le substrat, les substances nutritives et le floc, il faut améliorer le contact. Les moyens utilisés sont, soit une agitation mécanique, soit de fines bulles d'air. Une certaine puissance est donc mise en jeu. Elle est appelée puissance utile.

La fraction de puissance de turbulence généralement utilisée est :

$$G^2 = P / \mu C$$

où G, de façon très théorique, est appelée gradient de vitesse moyenne associée à la turbulence et exprime globalement la turbulence. Il a pour dimension T⁻¹

P = puissance utile consommée

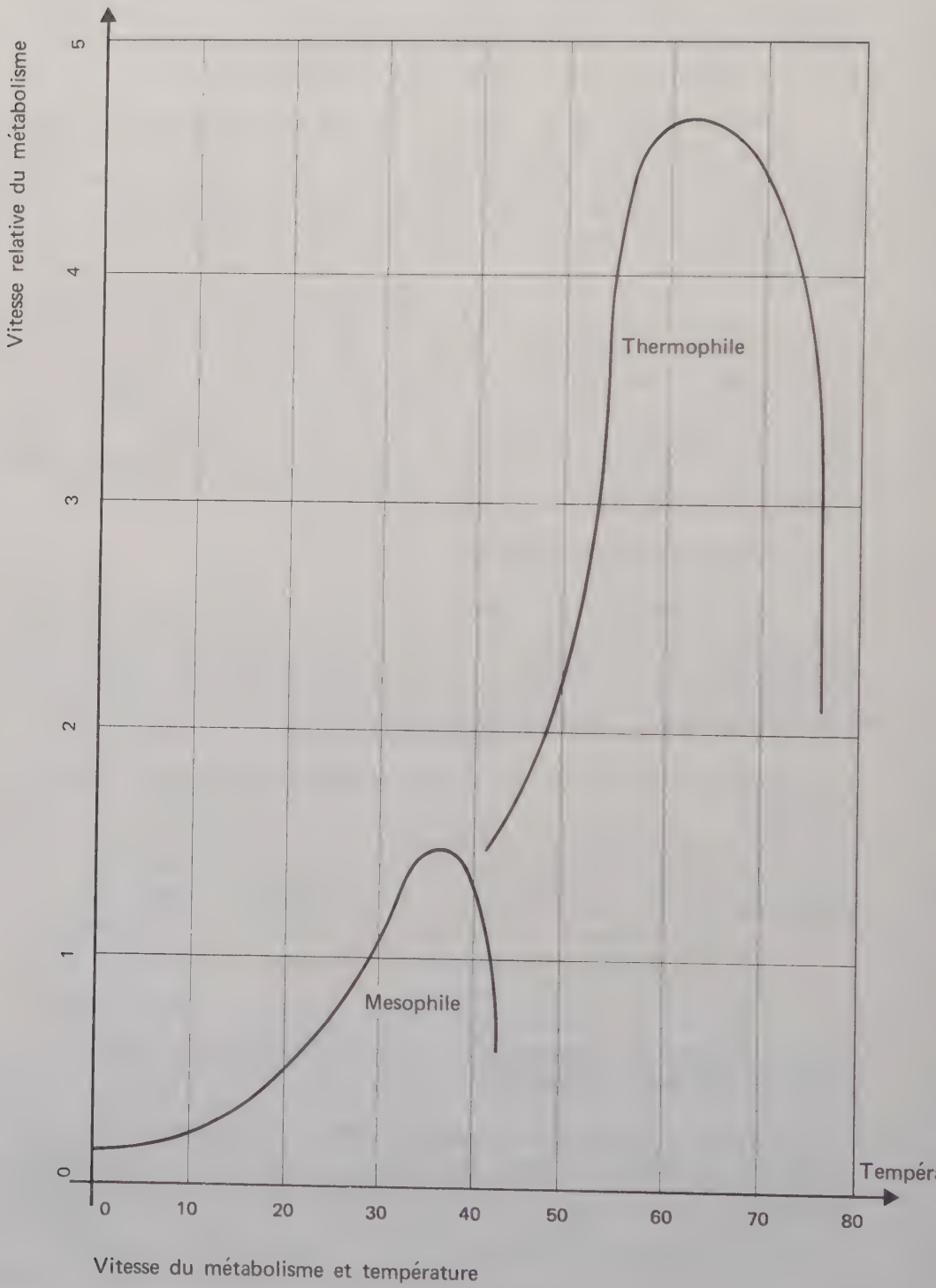
μ = viscosité absolue du liquide traité

et C = volume de liquide dans lequel la puissance est utilement consommée.

Toute la puissance dissipée dans le volume de liquide agité n'est pas utilement employée. Aussi un facteur supplémentaire "p" a-t-il été introduit pour exprimer ce phénomène. Il représente la fraction de puissance dissipée utilement consommée. Nous avons donc :

Vitesse du métabolisme selon les bactéries mésophiles et thermophiles

figure n° 5



$$P = \rho \text{ gph } V_a Q$$

$$C = Q t_a$$

$$G = \sqrt{\text{gph } V_a / \nu t_d}$$

$$t_a = C/Q$$

ou Q = débit moyen de l'eau à traiter
 ρ = masse volumique de l'eau à traiter
 ν = viscosité cinématique
 V_a = volume d'air diffusé dans le bassin d'aération.

Une étude très intéressante de ces phénomènes de turbulence a été réalisée par KALINSKE (83).

2-6) Aération

L'oxygène, nécessaire pour maintenir des conditions aérobies dans un bassin d'aération dépend de la concentration en matières organiques de l'eau polluée et de la masse active de boues activées.

La quantité d'oxygène nécessaire peut être exprimée mathématiquement par une expression de la forme :

$$y = ax + bz \quad (1)$$

ou $\frac{y}{z} = a \frac{x}{z} + b$

$y = \frac{dO}{dt}$ demande en oxygène par rapport au temps

$a = K_0$ constante d'oxygénation de synthèse

$x = \frac{dF}{dt}$ vitesse du métabolisme organique exprimée en mg de DBO 5 par litre

$b = k_a =$ constante d'oxygénation endogène

et M_a = masse active de boues activées.

K_0 est de l'ordre de 0,5 en général par valeurs supérieures,
 k_e est de l'ordre de 0,006/4.

En portant $\frac{y}{z}$ en fonction de $\frac{x}{z}$ sur un graphique, on obtient d'après QUICK (133) une ligne droite, avec pour ordonnée à l'origine $b = k_e$ et pour pente $a = \frac{dF}{dt}$.

La masse active est fonction du temps de séjour des boues dans le système aérateur-décanteur.

2-7) Transfert de l'oxygène

Le transfert de l'oxygène aux boues activées limite la charge organique que peut subir un système biologique aérobie. Le système par diffusion d'air est le plus souvent utilisé. L'air comprimé à 2 bars environ est introduit dans l'aérateur par des diffuseurs. La quantité maximale d'oxygène pouvant être diffusée par ce système est de 40 mg/l/h à 0°C. L'efficacité du système fait que 5 à 10% du débit d'oxygène fourni par les compresseurs est transféré.

L'aération peut être faite par des turbines placées à la surface de l'aérateur. Ces turbines combinées aux diffuseurs permettent de porter la vitesse de transfert de l'oxygène à 150 mg/l/h à 0°C. L'efficacité du transfert dans ce cas, peut être portée à 15%. Il est même possible d'obtenir de plus fortes quantités d'oxygène dissout et une plus grande efficacité de transfert. Cependant, un brassage trop intense peut endommager le floc de boues activées.

Il faut donc déterminer la puissance nécessaire au transfert d'une quantité d'oxygène donnée. Cette puissance est liée à la demande en oxygène de l'eau polluée et à la teneur en oxygène dissout qui doit être maintenue dans le bassin d'aération. Le choix du système d'aération dépend de la demande en oxygène de l'eau polluée. La seule méthode logique pour comparer l'efficacité des systèmes d'aération mis en jeu est de comparer la puissance dissipée pour atteindre le même niveau d'oxygène dissout. Les turbines d'aération utilisent plus de puissance par kg d'oxygène transféré aux basses teneurs en oxygène que des diffuseurs, mais l'inverse se produit pour les fortes demandes en oxygène. En général, on estime que la puissance utilisée pour transférer 1 kg d'oxygène est comprise entre 4,5 et 7 Kwh.

La concentration en oxygène nécessaire à un métabolisme biologique normal dans un bassin d'aération est de l'ordre de 0,5 mg/l. Habituellement, la concentration en oxygène est maintenue entre 2 et 6 mg/l d'oxygène dans l'aérateur. Si un système efficace est utilisé pour éliminer les boues du bassin en amont du bassin d'aération, il n'est pas nécessaire de maintenir une forte concentration en oxygène dissout, car la nitrification qu'en général on trouve stimulée favorise la dénitrification dans le décanteur.

2-8) Flocs et excès de boues

Les substances organiques contenues dans l'eau polluée sont converties en boues volumineuses et décomposables. Le poids final de boues décantées peut être estimé d'une façon très empirique. Il a été constaté en effet, que 50 à 60% de la DBO_5 à $20^\circ C$ est converti en floc (exprimé en poids de matières sèches en suspension).

Cette quantité de boues produites est fonction décroissante de l'âge des boues. Elle dépend également de la quantité de matières en suspension, en circulation dans le système.

Les observations de WURHMANN (173) peuvent être mises en équation :

$$\frac{z_t}{z_1} = \exp (- 0,26 t)$$

$$\frac{z_t}{z_1} = \frac{\text{Poids de matières en suspension volatiles âgées de } t \text{ jours}}{\text{Poids de matières en suspension âgées de } 1 \text{ jour}}$$

L'âge des boues est lié à la quantité de floc mis en circulation dans le système et à la quantité de floc formé dans un temps donné. Cet âge détermine l'activité des boues en circulation ou partiellement éliminées et leur niveau d'énergie.

Plus le floc est âgé, plus il contient de matières en suspension inertes et de microorganismes morts, et bien qu'il puisse demeurer actif du point de vue de l'action enzymatique et de l'adsorption, son pouvoir d'oxydation des substances adsorbées s'affaiblit tandis que les substances organiques s'accumulent.

Puisque la taille du floc croît, l'aire de surface de contact décroît par rapport à son volume. Le transfert des substances nutritives au floc et le rejet des produits du métabolisme loin du floc sont donc ralentis. La taille du floc ne peut être déterminée de façon précise, mais il est possible d'utiliser des techniques telles que la photographie ou la diffusion de la lumière.

TORPEY et GAULD (164) ont proposé la méthode suivante : l'âge de la boue en jours est calculée comme le rapport entre le poids en kilogrammes de matières sèches en suspension dans le système et les matières sèches en suspension qui s'échappent dans l'effluent exprimées en kilogrammes/jour. Bien que cette méthode ait été très critiquée, elle est de nos jours encore très utilisée. Des résultats semblables sont obtenus en divisant par l'excès de boues en m^3 /jour, le volume du bassin d'aération.

Le rapport $\frac{zt}{z_1}$ prend les valeurs 0,59, 0,35 et 0,14 pour des boues âgées de 2, 4 et 8 jours.

D'autres constatations faites par HENLELEKIAN, ORFORD et MANGANELLI (70) ont été formulées de la façon suivante :

$$\Delta y = 0,5 x - 0,0055 z$$

Δy : accumulation de solides volatils en kg/jour,
 x : charge de DBO en kg/jour,
 z : matières en suspension volatiles du système en kg.

Si le liquide contient des matières en suspension volatiles ω , elles doivent être ajoutées au bilan massique. Δy devient égal à :

$$\Delta y = a'x - b'x + c' \omega$$

a' et b' sont peu différents des coefficients a et b de l'équation (1) du chapitre 2-2 : Aération.

c' exprime la fraction de solides volatils de l'eau à traiter.

D'autres formules ont encore été proposées :

$$M_a = \frac{k_e F_e}{\frac{1}{t} + k_e}$$

ou M_a : masse active de boues activées en mg/l,

K_s : constante de synthèse (250/jour à 20°C),

F_e : concentration en matières organiques dans l'effluent en mg/l,

t : âge des boues en jour,

et k_e : constante de métabolisme endogène (0,14/jour à 20°C).

La masse de matières en suspension volatiles peut être approchée par la formule :

$$M = M_a (1 + K_i t) + M_i \left(\frac{1}{T}\right)$$

ou M : masse totale de matières en suspension en mg/l,

K_i : constante de synthèse endogène des matières inertes 0,024/jour à 28°C,

T : temps de rétention de l'eau à traiter dans le bassin d'aération en jour,

M_i : masse de matières en suspension inertes en mg/l.

2-9) Charge de pollution et charge hydraulique

Lors de la conception d'une unité de traitement biologique utilisant le procédé des boues activées, il faut considérer la charge de pollution et la charge hydraulique.

De la charge hydraulique dépend la dimension des tuyauteries, les caractéristiques des pompes qui véhiculent les fluides, et les volumes des bassins d'aération et de décantation.

Par contre, la charge de pollution qui exprime la quantité de matières organiques et de substances nutritives contenues dans les eaux régit les paramètres du procédé.

Relier ces deux paramètres aux performances de l'installation est possible en considérant l'intensité de la charge.

Souvent des détails particuliers tels que l'adsorption, la synthèse de nouvelles bactéries, l'oxydation des matières organiques, la respiration endogène, la décantabilité par exemple, peuvent influencer la qualité de l'effluent et doivent être considérés individuellement.

La charge hydraulique est généralement exprimée par un débit en m³/h par exemple, mais il est également possible de l'exprimer par le temps de rétention dans le bassin d'aération de volume connu.

La charge de pollution, elle, est exprimée par la DCO, la DBO et la quantité de matières en suspension dans l'eau à traiter. Dans des circonstances bien particulières, d'autres analyses plus spécifiques peuvent être utilisées : turbidité, azote organique, ammoniac, phosphore, détergents biodégradables ou non, polymères, bactéries, virus

La charge de pollution doit être également liée à la qualité du contact entre les substances organiques et le floc. La fraction de puissance

$G^2 = \frac{P}{\mu C}$ et Gt_1 , facteur caractérisant le contact sont utilisés à cet effet.

La plupart des autres paramètres couramment utilisés sont des mesures peu précises de la qualité du contact.

Pour le procédé des boues activées sont utilisées par exemple :

- 1) en prenant pour référence la dimension du bassin d'aération les kg de DBO apportés journellement par m³ de volume de bassin ou par m² de surface de bassin, ou encore par mètres de longueur de bassin,
- 2) en prenant pour référence l'air utilisé : le nombre d'heures d'aération, ou les m³ d'air (dans les conditions normales de température et de pression) utilisés par kg de DBO,
- 3) en se référant aux boues recyclées, les kg de DBO fournis journellement par tonne de boues recyclées par rapport au volume d'eau entrant dans le bassin d'aération pendant le même temps.

La charge de pollution joue un rôle important en particulier, les variations des caractéristiques des polluants en quantité et en nature d'après ASHMORE (8) et JACOBITZ (80).

2-10) Efficacité du traitement

Généralités

On peut optimiser l'épuration biologique dans le procédé des boues activées en étudiant le recyclage.

La recirculation des boues et d'une partie de l'eau traitée dans le bassin d'aération répartit la charge d'impuretés imposée à l'unité et module le débit appliqué. De cette façon, charges irrégulières et normales sont uniformément réparties.

Le nombre de passes effectuées (F) est donné par la formule suivante :

$$F = \frac{1 + \frac{R}{I}}{1 + (1 - f_w) \frac{R}{I}} \quad 2$$

ou I = débit d'eau à l'entrée

R = débit de recyclage

$\frac{R}{I}$ = rapport de recirculation

$f_w \leq 1$ = facteur qui évalue les variations de l'efficacité du traitement par rapport à l'eau polluée.

Le rapport de recirculation optimal est :

$$\frac{R}{I} = (2 f_{\omega} - 1) (1 - f_{\omega})$$

Exemples :

$\frac{R}{I}$	8	3	1/3	1/2	0
f	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5

Mesure de l'efficacité

Dans tous les systèmes de traitement, la performance est mesurée en analysant la qualité de l'eau à l'entrée et à la sortie.

Efficacité et charge de pollution

Il est possible de relier les qualités de l'eau à l'entrée et à la sortie du système :

$$F_e = \frac{F_i}{T K + 1}$$

F_e = concentration en matières organiques dans l'eau d'alimentation en mg/l (DBO par exemple),

F_i = concentration en matières organiques de l'effluent,

T = temps de rétention de l'eau dans l'aérateur en jour,

K = constante (360/jour à 20°C).

2-11) Décantation

Le temps de décantation et la vitesse ascensionnelle de l'eau dans le décanteur sont les deux facteurs les plus importants. En général, un temps de séjour de deux heures dans le décanteur donne une décantation efficace avec un indice de décantation des boues (Sludge volume index : SVI) de 100.

Indice de décantabilité =

$$\frac{\text{Volume de boues après 30 mn de décantation}}{\text{poids de ce même volume de boues}}$$

Cet indice de décantabilité, comme l'a montré GANZAREZICK (57), est très utile pour suivre la décantation. La vitesse optimale de l'eau reconnue pour l'expérience est de $1 \frac{1}{40} \text{ m}^2$ de surface de bassin.

Un trop long temps de décantation n'est pas recommandé car il favorise la dénitrification et la montée de bulles d'azote entraînent le floc à la surface du décanteur.

2-12) Etude en laboratoire du procédé des boues activées

Il existe plusieurs solutions :

- 1) alimentation en matières organiques (polluant) discontinue,
- 2) alimentation et soutirage séquentiels,
- 3) alimentation continue en eau polluée.

Examen des différentes solutions

1) alimentation en polluant discontinue

Ce procédé très simple et économique permet d'étudier :

- la bioxydation
- la réduction de la DCO ou de la DBO dans le temps
- le floc et sa croissance
- la biodégradabilité

Par contre, il a les inconvénients suivants :

- inapplicable aux produits toxiques
- impossibilité d'extrapoler à une échelle industrielle
- la charge organique appliquée varie dans le temps.

2) soutirage et alimentation séquentiels

Ce procédé permet d'adapter plus rapidement les enzymes que la méthode d'alimentation en continu. Il est très économique et facile à exploiter. Il a les mêmes avantages et également les mêmes inconvénients que le procédé discuté précédemment. Des exemples d'appareils à marche discontinue ont été présentés dans la littérature par SYMONS (157), LUDZACK (104), ECKENFELDER (47), BUSCH (27) et BUNCH (26).

3) méthode en continu

Ce procédé permet d'étudier tous les paramètres précédents et à l'avantage de permettre l'extrapolation à grande échelle. Il est très intéressant pour l'étude de la biodégradabilité des produits toxiques, car il ne provoque pas de brutaux accroissements de charge. Ses principaux inconvénients sont : son exploitation délicate et son prix de revient.

En résumé, beaucoup de paramètres interviennent dans le processus d'épuration des eaux à l'aide des boues activées et peu de pilotes sont conçus pour pouvoir faire varier tous ces paramètres. Il paraissait donc intéressant d'essayer de concevoir, en laboratoire, un appareil capable d'étudier l'influence de la plupart d'entre eux et de fonctionner en continu. C'est le but que nous nous sommes fixé et qui fait l'objet de notre prochain chapitre.

CHAPITRE V

MATERIEL ET METHODES

CONSTRUCTION DU PILOTE

I - Définition du pilote et but recherché

Le procédé d'épuration biologique que nous avons retenu est celui qui est actuellement le plus utilisé pour le traitement des eaux usées industrielles, c'est-à-dire le procédé des boues activées à aération et agitation mécanique combinées.

L'installation est prévue pour fonctionner en continu afin que les résultats soient extrapolables à l'échelle industrielle.

Pour les études de laboratoire, il est essentiel de pouvoir mesurer et fixer à chaque instant les paramètres agissant sur le processus d'épuration par boues activées.

Le pilote que nous avons conçu permet d'étudier tous les paramètres présentés dans la partie bibliographique, et d'en faire varier un et un seul, lorsque tous les autres sont fixés.

Nous rappellerons que les paramètres physiques dont il faut tenir compte pour la conception de ce type d'appareillage sont les suivants :

- temps de rétention dans l'aérateur et géométrie de cet aérateur,
- aération,
- charge hydraulique,
- puissance dissipée dans l'aérateur,
- température,
- quantité de boues recyclées.

II - Caractéristiques de l'installation

1) Rappel du principe

L'eau à traiter provenant du réservoir de stockage est amenée dans l'aérateur au contact des microorganismes. Le mélange eau-microorganismes est aéré et brassé durant plusieurs heures. De l'aérateur, le mélange eau-microorganismes est amené au décanteur afin de séparer l'eau des microorganismes grâce à leur différence de masse volumique. L'eau est dirigée vers la cellule de déversement afin d'être rejetée et les microorganismes décantés sont recyclés dans l'aérateur.

2) Description du pilote

Le schéma du pilote est représenté sur la figure 6. L'appareillage, les instruments de mesures et les prises d'échantillons sont explicités dans le tableau III.

Pour construire le pilote, il était nécessaire de lui donner au départ certaines caractéristiques. Nous avons fixé le débit moyen de l'installation à un litre/heure et la charge de pollution comprise entre 50 et 600 mg.

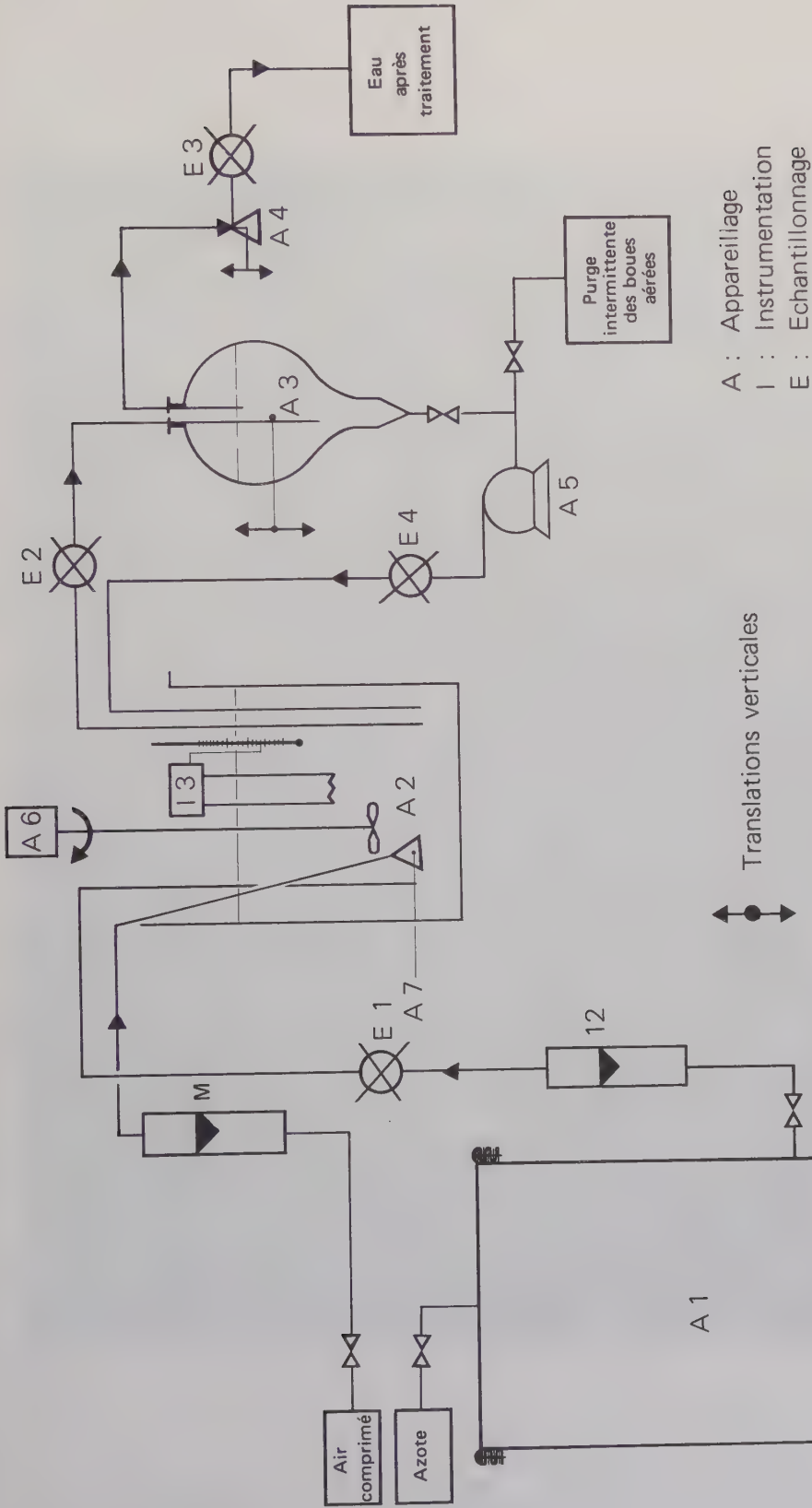
a) Stockage de l'eau

La vitesse du métabolisme varie dans le temps suivant les différentes qualités de l'eau usée. Il est donc nécessaire, pour étudier les phénomènes de dégradation biologique et d'adaptation de la microfaune au substrat, de prévoir des volumes importants d'eau de qualité constante. Cette homogénéité de l'eau usée est très difficile à obtenir surtout avec des eaux prélevées sur les rejets d'une usine.

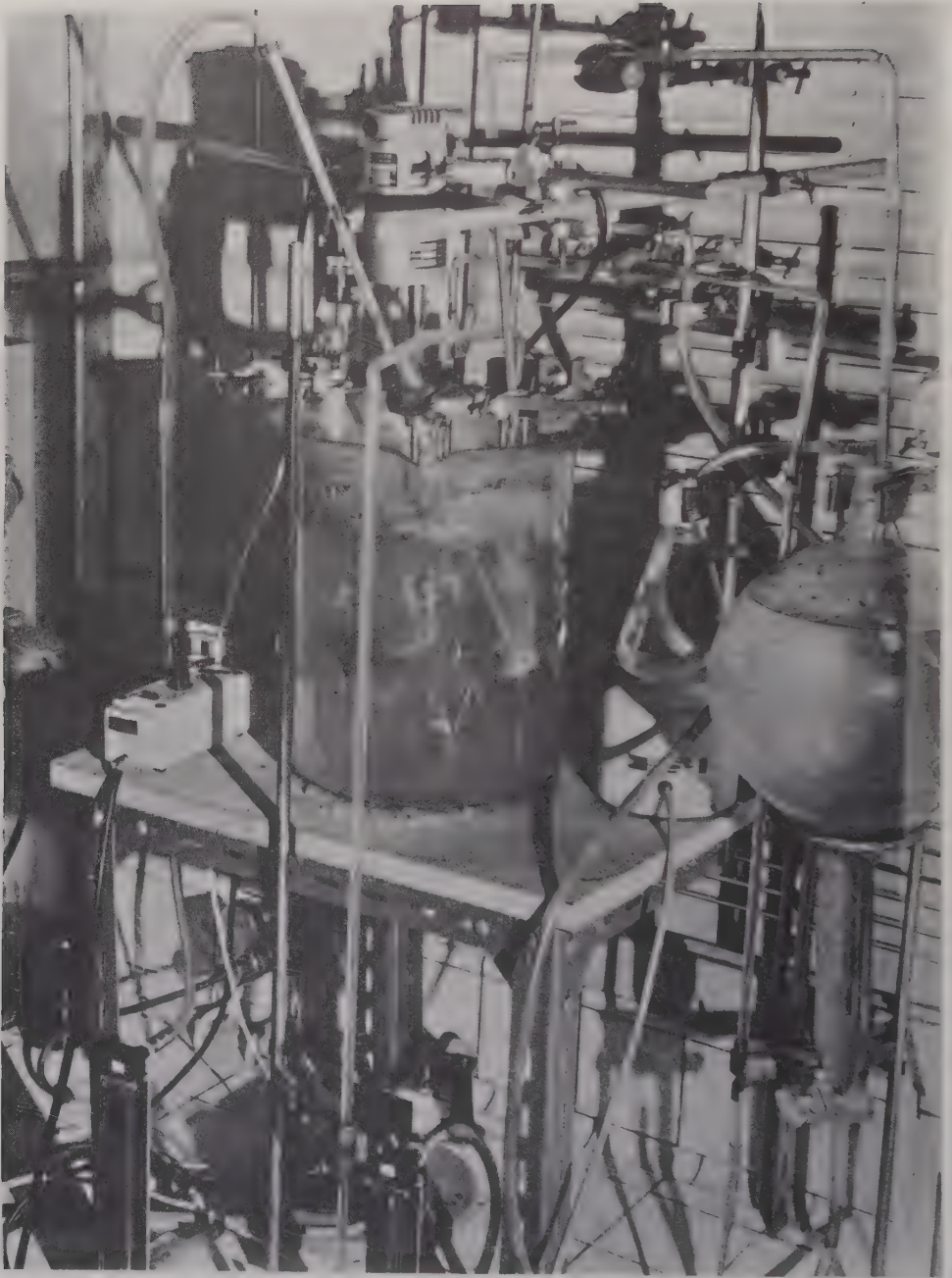
Le réservoir de stockage, dont le volume est de 200 litres, donne à l'unité de traitement une autonomie de huit jours. Avec des eaux polluées synthétiques, le rôle du stockage a beaucoup moins d'utilité.

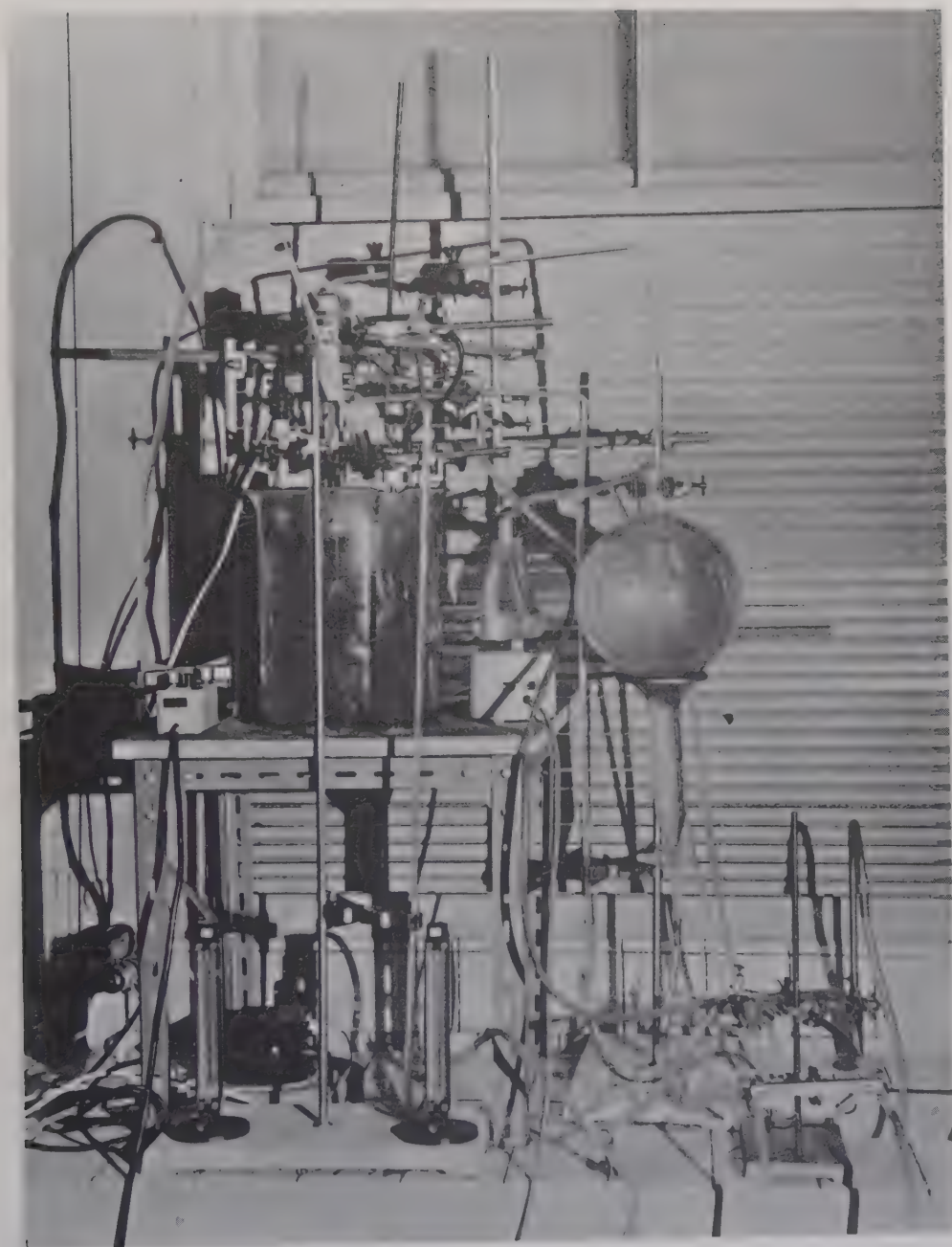
Dans ce réservoir, l'eau usée est mise sous atmosphère d'azote qui a un double rôle :

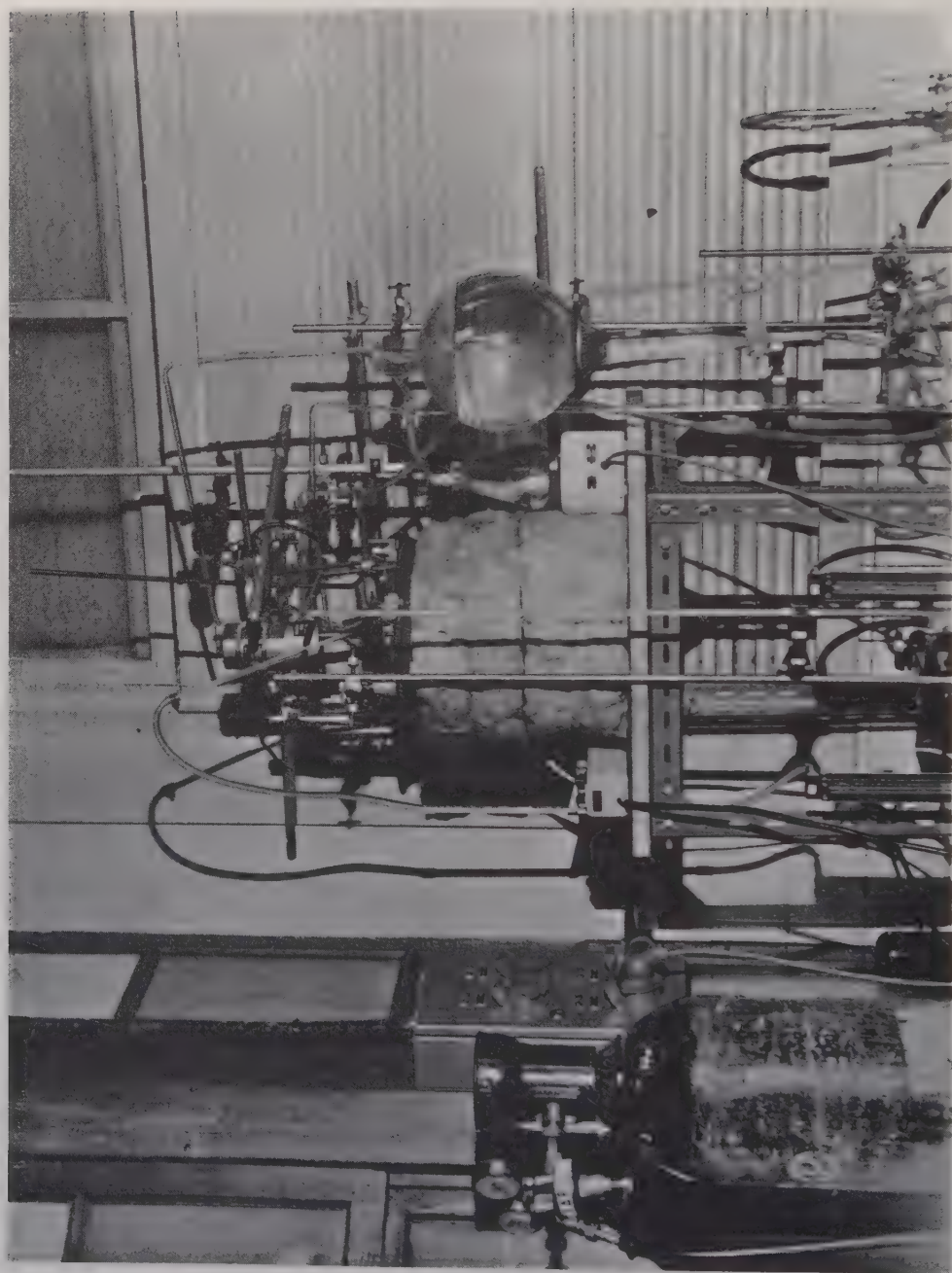
- fournir une pression suffisante pour amener l'eau usée du réservoir de stockage à l'aérateur,
- maintenir l'eau usée sous atmosphère inerte.



UNITE D'EPURATION BIOLOGIQUE DE
 LABORATOIRE UTILISANT LE PROCEDE DES
 BOUES ACTIVEES - PLAN DE CIRCULATION DES FLUIDES







Repère	Désignation	Caractéristique	Observations
Appareillages	A1 Réservoir de stockage d'eau à traiter	volume = 200 litres	Mise sous pression par de l'azote
	A2 Aérateur	volume utile = 10 litres	
	A3 Décanteur	volume utile = 4 litres	
	A4 Cellule de déversement	fiolle à vide de 250 cm ³	
	A5 Pompe péristaltique	débit 0 - 1 l/h	Débit réglable et mesurable
	A6 Agitateur	vitesse variable de 0 à 5000 t/mn	
	A7 Diffuseur d'air	disque de téflon poreux monté sur embout d'en-tonnoir	
Instrument	11 Rotamètre	0 - 50 l/h air	vanne de réglage à pointeau
	12 Rotamètre	0 - 5 l/h eau	vanne de réglage à pointeau
	13 Microthermostat	15°-70° précision	équipé avec un thermomètre - 10 à 100°C
Echantillons	E1 Eau polluée avant épuration		
	E2 Boues aérées		
	EE3 Eau polluée après épuration		
	E4 Boues décantées		

TABLEAU III - Caractéristiques de l'unité d'épuration.

b) L'aérateur

L'eau usée provenant du réservoir de stockage est introduite dans l'aérateur où elle est mise en contact avec les microorganismes pour être aérée et brassée mécaniquement. Le temps de séjour de l'eau usée dans l'aérateur varie entre 3 et 8 heures. Le volume total de l'aérateur est de 14 litres dont 10 litres de volume utile. Sa forme est celle d'un cylindre de 24 centimètres de diamètre et de 32 centimètres de hauteur.

1 - L'aération est obtenue par diffusion d'air comprimé à travers une plaque de téflon poreux, qui a l'avantage de produire de fines bulles d'air. Le débit d'air nécessaire peut être calculé à partir de la charge de pollution et de la quantité de matières en suspension biologiquement actives. Sur la base que nous avons choisie, il doit pouvoir varier entre 3 et 50 litres/heure.

Afin de répartir l'air d'une manière quasi uniforme dans le bassin, la plaque de téflon poreux servant à la diffusion de l'air a été placée sur le rayon moyen de l'hélice théorique que produit l'agitateur.

2 - L'agitation est obtenue par un agitateur tournant à une vitesse qu'il est possible de régler entre 0 et 5.000 tours/minute. Cette agitation améliore nettement le transfert de l'oxygène, et facilite également le transfert des matières organiques au floc. De plus, cette agitation homogénéise le contenu de l'aérateur, ce qui est très important, en particulier, pour la température.

3 - En effet, la température joue un rôle important dans le métabolisme. Un microthermostat a donc été mis en place afin d'obtenir une température rigoureusement constante dans l'aérateur. Afin de limiter les fuites thermiques, l'aérateur a été calorifugé.

L'eau ayant passé dans l'aérateur doit être séparée des microorganismes, afin de récupérer ces derniers et de rejeter une eau clarifiée.

c) Le décanteur

Par un siphon, le mélange eau-bactéries est amené de l'aérateur au décanteur. L'eau claire est reprise en surface pour être dirigée vers la cellule de déversement, tandis que le floc boueux de microorganismes est repris par une pompe péristaltique pour être recyclé dans l'aérateur.

Le temps de décantation optimum et généralement admis est de 2 heures. Le volume du bassin d'aération a été choisi égal à 4 litres, afin de pouvoir fonctionner éventuellement avec un débit d'alimentation de 2 litres par heure.

Le décanteur est une ampoule à décanter dont le diamètre de la sphère est de 21 centimètres. La vitesse moyenne de montée de l'eau est de 1 l/h/dm^2 , vitesse reconnue optimale d'une façon très empirique par la plupart des auteurs.

d) Cellule de déversement

L'eau clarifiée est extraite du décanteur par un siphon qui prend l'eau à la surface du décanteur et l'amène à la cellule de déversement; celle-ci a pour rôle de fixer le niveau de l'eau de toute l'installation et de rejeter l'eau traitée.

Il est possible, grâce à cette cellule, de faire varier le temps d'aération de 3 à 8 heures tout en maintenant le temps de décantation constant, et égal à 2 heures.

Les positions limites des différents appareils sont représentées par la figure 7.

En résumé, le pilote présenté dans ce chapitre permet d'effectuer un bon nombre d'études. Ses possibilités dépassent légèrement le cadre de notre expérimentation, mais il nous a paru intéressant de mettre au point un tel modèle pour étudier rigoureusement les phénomènes biologiques des boues activées.

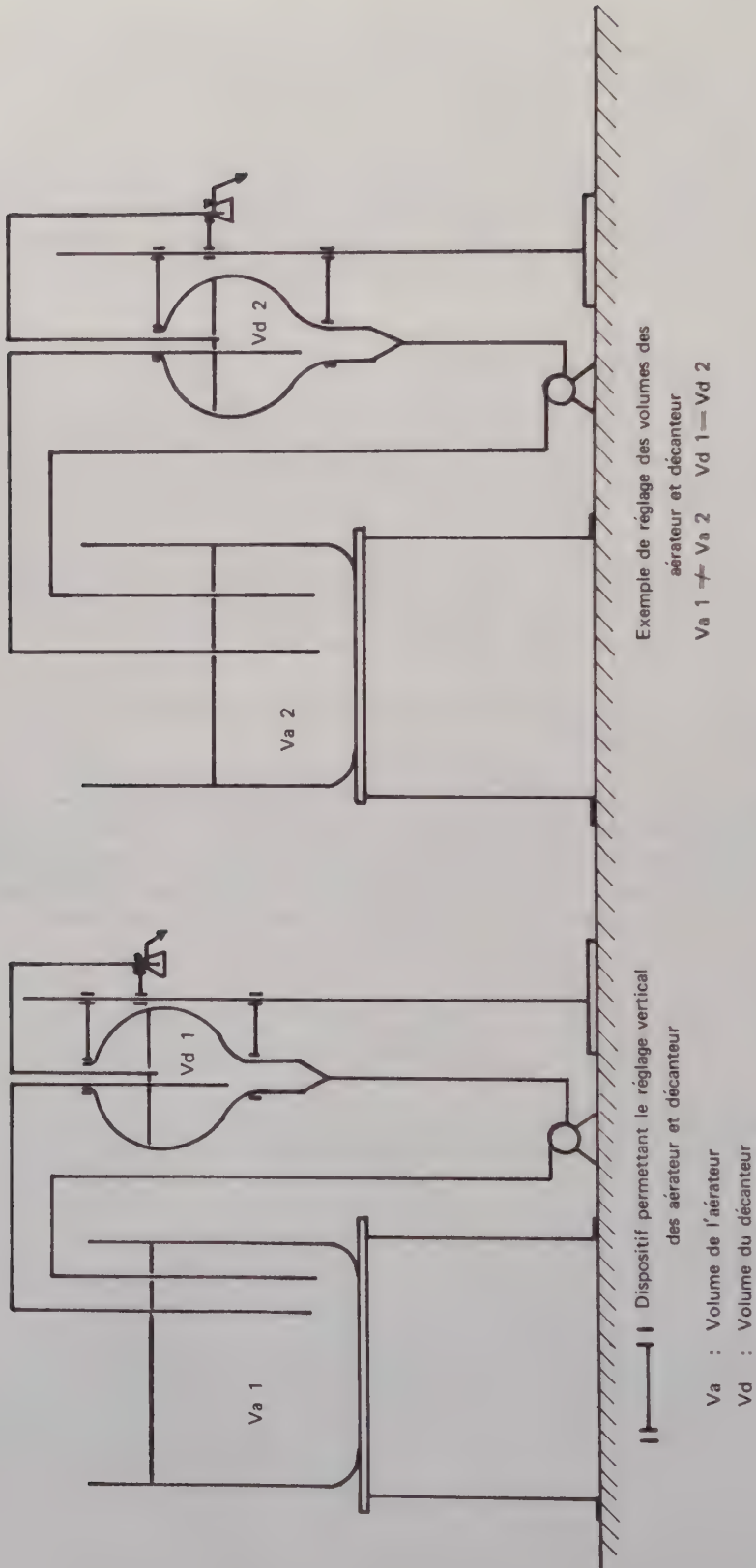


Figure 7 - POSITIONS LIMITES DES DIFFERENTS APPAREILS

METHODES ET ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Ce chapitre étudie les méthodes d'analyses permettant de juger de l'efficacité d'épuration de notre pilote.

I - Détermination du pH

Méthode utilisée : Le pH a été déterminé par potentiométrie avec l'appareil TACUSSEL, type TS4 F3. La sensibilité pratique est de 1/20 d'unité pH.

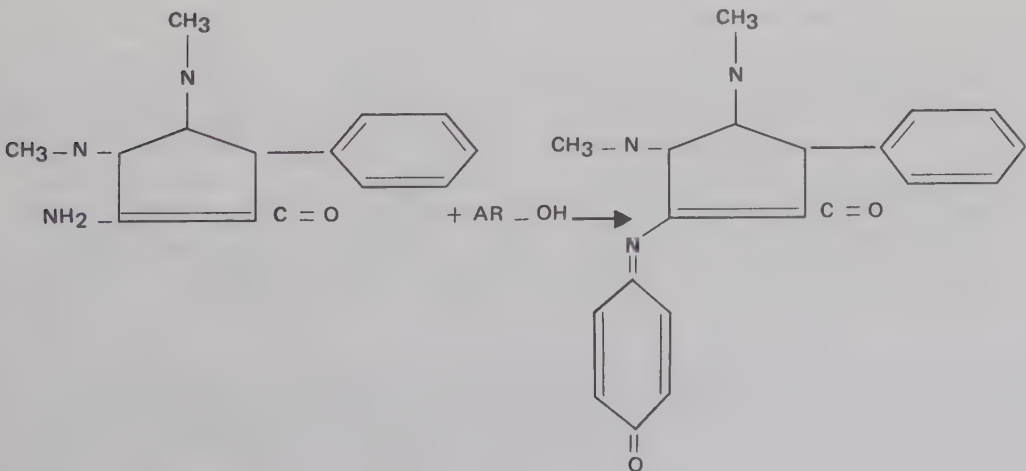
Signification : Le maintien à taux relativement constant du pH est important pour assurer la constance de l'équilibre biologique de la boue activée.

II - Dosage des composés phénoliques

Nombreuses sont les techniques proposées pour les dosages de phénol : la difficulté est d'en trouver une suffisamment générale pour détecter, sinon la totalité des corps phénoliques, du moins le plus grand nombre possible, et suffisamment sensible pour les décèler à des taux très faibles.

Nous avons utilisé la méthode au 4-amino-antipyrine, technique en quelque sorte officielle puisqu'elle est décrite dans les textes concernant les effluents industriels.

Elle utilise la réaction des composés phénoliques en solution alcaline avec le 4-amino-antipyrine, en présence d'un agent oxydant comme le ferricyanure de potassium.



Cette réaction conduit à l'obtention d'une coloration rouge que l'on peut déterminer par photométrie à 4.600 Å . La sensibilité peut être augmentée par extraction du composé colorant, par le chloroforme. Le dosage est pratiqué soit directement sur l'eau, soit après distillation. Dans le cas présent, nous utilisons le dosage direct.

Si cette réaction se produit avec les phénols et les dichloro-phénols, donc permet de révéler un éventail large de corps phénoliques, elle se produit également en présence de certaines amines aromatiques. Par contre, certains phénols contenant les groupements alkyl, aryl, nitré, ou d'autres groupements en para, ne réagissent pas. Il convient en outre de s'assurer de l'absence dans l'eau d'oxydants ou de réducteurs, ainsi que de substances réagissant avec le ferricyanure. Enfin, l'intensité dans la coloration varie avec les phénols présents, et l'expression des résultats est indiquée sous le forme d'une valeur moyenne établie à partir du phénol lui-même.

Les solutions diluées de phénol se décomposant rapidement, il est préférable d'effectuer l'analyse dans les six heures succédant au prélèvement ou de stabiliser les réactions biologiques par l'addition de 1 g de sulfate de cuivre par litre, ce qui permet de différer le dosage de quelques jours.

Les "Normes européennes" applicables à l'eau de boisson recommandent de ne pas dépasser le teneur de 0,001 mg/l. La législation française interdit la présence de phénol.

Le minimum de sensibilité de la méthode peut être fixé à environ 0,020 à 0,010 mg/litre.

III - Demande biochimique d'oxygène (DBO)

La demande biochimique d'oxygène d'une eau représente un test exprimant la cinétique d'un phénomène de pollution. Il fut recommandé, dès le début de ce siècle, par "The royal commission on Sewage Disposal", sous le titre de "Dissolved oxygen taken up in 5 days at 65° F", plus connu sous le terme de "Biochemical oxygen Demand" ou simplement par l'abréviation employée couramment "B.O.D.", ou "DBO" en France. Après avoir été un test anglo-saxon, il est actuellement une des plus universelles mesures d'appréciation de la pollution.

1) Principe de cette D.B.O.

Elle a pour but de réaliser, au laboratoire, un phénomène qui se déroule normalement dans des milieux naturels : eaux de rivières, effluents. Le phénomène est la dégradation de matières organiques contenues dans ces milieux par des germes bactériens. Cette dégradation s'effectue par des processus chimiques d'oxydo-réduction. Ceux-ci entraînent une consommation d'oxygène qui peut être facilement mesurée. Elle exprime ainsi un reflet de la teneur en matières organiques du milieu étudié.

En pratique, donc au laboratoire, ce test se réalise en évaluant la consommation d'oxygène, par une eau à étudier, contenue dans des flacons fermés et placés dans un incubateur à 20°C, à l'obscurité et pendant un temps déterminé. Les résultats sont exprimés en partie par million ou en milligramme par litre d'oxygène dissout consommé.

Plusieurs remarques sont à noter :

- Dans les milieux naturels, la consommation d'oxygène est compensée régulièrement par la dissolution d'oxygène atmosphérique dans l'eau, alors que nous conservons au laboratoire les échantillons fermés où le renouvellement d'oxygène dissout ne peut se faire.
- Certaines eaux polluées contenant un taux d'oxygène très bas ne peuvent être mises, pour des raisons techniques, pures en incubation et doivent être diluées auparavant avec un diluant choisi.

2) Facteurs intervenant dans ce test

HERGUEZ (71), a montré l'importance des différents facteurs intervenant dans ce test.

- La température d'incubation doit être maintenue à 20°C pendant toute la durée de l'épreuve et il est recommandé d'éviter tout écart de température supérieur à 0°5.
- Les flacons doivent être placés à l'obscurité pour éviter tout processus de photo-synthèse : les nombreux résultats obtenus prouvent qu'effectivement les D.B.O. réalisées à la lumière ont des taux inférieurs à des D.B.O. placées à l'obscurité.
- La durée d'incubation adoptée par le journal officiel français est de 5 jours, cependant, pour des eaux polluées, la D.B.O. 1 jour, présente des avantages certains.

- Le Journal Officiel n'impose aucun volume particulier. Plusieurs auteurs recommandent le volume de 250 ml, mais il est fort possible d'utiliser des flacons de volumes de 125 ml ou 60 ml. HERGUEZ et ses collaborateurs (71) ont montré que les résultats pouvaient varier d'un volume à l'autre surtout si les eaux sont très polluées.

- La plupart des eaux non polluées ou peu polluées contiennent une quantité suffisante d'oxygène dissout pour permettre la dégradation de toutes leurs matières organiques. Mais, dans le cas d'eaux très polluées, cette quantité devient insuffisante. Des dilutions plus ou moins poussées, à l'aide d'une eau pure, diminuent la teneur en matières organiques tout en maintenant presque constant le taux d'oxygène, et permettent ainsi une lecture de la D.B.O. à 5 jours. Il faut signaler que cette dilution impose le choix d'une eau de dilution et l'obligation d'effectuer plusieurs échantillons.

3) Signification

Le demande biochimique en oxygène est un test qui fut et qui est encore très discuté, du fait de son exécution en laboratoire et non dans le milieu naturel où se produisent les phénomènes biochimiques, du fait d'interférences nombreuses agissant sur la multiplication et l'activité bactérienne et de son interprétation délicate.

IV - Demande chimique en oxygène (DCO)

Dans ce test, on réalise la mesure de l'oxydation des matières organiques, non plus par le processus compliqué d'oxydation biologique, mais par une simple oxydation chimique conduite elle aussi dans des conditions bien déterminées.

1) Définition

On entend par "demande chimique en oxygène" (DCO) la quantité d'oxygène consommée par les matières, oxydables dans les conditions de l'essai, contenues dans l'eau.

2) Principe

On oxyde par un excès de dichromate de potassium en milieu acide sulfurique et à l'ébullition durant 2 heures, les matières, oxydables dans les conditions de l'essai, contenues dans l'eau, en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure.

On détermine l'excès de dichromate à l'aide d'une solution titrée de sulfate de fer et d'ammonium.

3) Résultats

La demande chimique en oxygène est exprimée en milligrammes d'oxygène par litre.

Les deux techniques chimique et biologique ne sont pas comparables, mais complémentaires. La mesure chimique permet, en effet, de pallier à une défaillance de la D.B.O. dans le cas où une inhibition entraverait les processus biologiques. Mais cette mesure chimique de l'oxydabilité est sujette également à des défaillances. Toutes les matières organiques ne réagissent pas de même manière au dichromate, et les oxydants ou réducteurs présents dans le milieu sont des sources d'erreur.

V - Dosage du diméthylsulfoxyde (DMSO)

Le DMSO a été dosé par chromatographie en phase gazeuse. Les résultats quantitatifs furent obtenus par la méthode dite à l'étalon interne.

Les caractéristiques de fonctionnement du chromatographe pendant les analyses sont :

- 1) Appareil : marque MICROTEK, type G.C. 2000 R
- 2) Dispositif d'injection : - caractéristique : seringue
 - température : 170°C
 - quantité injectée : 10 µl
- 3) Colonnes
 - a) tube : inoxydable
 - b) longueur : 1 m
 - c) diamètre : 1/8 de pouce
 - d) remplissage : support chromosorb granulométrie 60-80
 - e) phase stationnaire - P.E.G. - 20.000 x.
 - f) température limite stationnaire 230°C
 - g) solvants appropriés : chloroforme, chlorure de méthylène.
- 4) Détecteur
 - a) nature : ionisation flamme
 - b) température : 170°
 - c) flamme : air 0,8 hydrogène 30 ml/mn
- 5) Gaz vecteur
 - a) nature azote, débit 40 ml/mn
 - b) pression d'entrée 2 bars
- 6) Fours : isotherme à 150°C
- 7) Enregistreurs : TEXAS

Après chaque arrêt du chromatographe, une solution étalon à 9,04 ppm était injectée et les mesures ne commençaient que lorsque l'appareil était stabilisé.

Le dosage n'est pas parfaitement reproductible, pour chaque échantillon, quatre mesures ont été faites, la valeur moyenne donnant la teneur en DMSO.

Exemple :

	h	td	hxt d	h	td	hxt d	h	td	hxt d	td	hxt d	$\frac{hxt d}{4}$
	60	42	2520	50	40	2000	45	40	1800	42	1890	2100
Solution à doser	58	34	1972	73	35	9555	74	35	2590	35	2345	2365

$$\text{Concentration en DMSO dans l'échantillon} = \frac{9,04 \times 2365}{2100} = 10,2 \text{ ppm}$$

h = hauteur du pic
td = distance de rétention

TECHNIQUES BACTERIOLOGIQUES

A - Les milieux utilisés

Comme dans toute technique bactériologique nous utiliserons, dans un premier temps des milieux d'isolement, puis, dans un deuxième temps, les milieux d'identification.

α) Milieu d'isolement

1) Gélose nutritive

Ce milieu est employé pour isoler les bactéries en tubes et sur boîtes de Pétri. Il est préparé à partir d'une poudre deshydratée contenant :

- Tryptose	10 g
- extrait de viande	3 g
- chlorure de sodium	5 g
- agar	15 g

q.s.p; 1 litre de milieu.

Le mélange est mis en suspension dans 1000 ml d'eau chaude, puis on porte à ébullition, on laisse refroidir et on ajuste le pH à 7,20 avec la potasse N/10. On répartit en tubes à essais de 16 ou 22 (boîte de Pétri) et on stérilise à l'autoclave 15 minutes à 120°C.

2) Milieu à l'extrait de boue

Ce milieu a été employé pour tenter d'isoler d'emblée les germes jouant un rôle effectif dans l'épuration des eaux polluées. Ce milieu se prépare en deux temps, on utilise les techniques analogues à celles de microbiologie du sol préconisées par POCHON (130).

Premier temps : Préparation de l'extrait de boue. La boue activée est prélevée dans le bassin d'aération de la station d'épuration; on lui fait subir un traitement d'une heure à l'autoclave à 130°C. On filtre en série de manière à obtenir un liquide limpide légèrement ambré. L'extrait est réparti en flacons de 100 à 1000 ml et passé à l'autoclave 30 minutes à 115°C.

Deuxième temps : Préparation du milieu d'isolement à l'extrait de boue. Ce milieu est préparé à partir de l'extrait de boue selon la formule suivante :

- extrait de boue 1.000 ml
- gélose 15 g

On ajuste à pH 7,4 par la soude N/10, puis le milieu est autoclavé 20 minutes à 120°C.

β) Milieu d'identification

La caractérisation des bactéries sera faite en utilisant deux sortes de milieux, les milieux classiques et les techniques en plaques.

Techniques classiques

a) Les milieux classiques

- 1 - Gélose nutritive : voir chapitre précédent
- 2 - bouillon nutritif :
 - trypticase 5 ‰
 - NaCl 9 ‰
 - extrait de levure 2 ‰

eau distillée stérile tamponnée pH 7. Stériliser 15 mn à 115°C.

- 3 - Bouillon nitrate :
 - NaCl 3 g
 - peptone 10 g
 - KN O₃ 1 g
 - eau distillée 1000 ml

ajuster à pH 7,4 - 7,6. Stériliser 15 mn à 115°C.

4 - Gélose profonde :

- neutraliser un litre de degestat VF acide par 9 cm³ de lessive de soude pure et ajuster à pH 7,6.
- ajouter : gélose 8 g. Dissoudre au bain-marie, porter à l'autoclave 30 mn à 118°.
- filtrer sur papier Laurent mou, puis sur papier Laurent dur mouillé à l'eau chaude.
- ajouter du glucose 2%.
- répartir en tubes de 8-9/180 mm sur une hauteur de 8 cm.
- stériliser à 110°C pendant 30 minutes.

5 - Milieu de Hajna ou milieu combiné lactose-glucose -H₂S

Ce milieu permet l'étude de nombreux critères d'identification : fermentation du lactose, du glucose, production d'H₂S, recherche de la lysine-décarboxylase, de la 3 galactosidase et de la désaminase de phényl-alanine ou du tryptophane.

- peptone tryptique de fibrine	20 g
- Na Cl	5 g
- Lactose	10 g
- Glucose	1 g
- Hyposulfite de sodium	0,2 g
- Sulfate de fer	0,3 g
- Rouge de phénol à 1%	2,5 ml
- Gélose	17 g
- eau	1000 ml

stériliser 15 minutes à 115°C.

6 - Milieu urée-indole

Il s'agit du milieu de Ferguson modifié par Roland, Bourbon et Szturm :

- L-tryptophane	0,3 g
- PO ₄ KH ₂	0,1 g
- PO ₄ K ₂ H	0,1 g
- Na Cl	0,5 g
- Urée	2 g
- Alcool à 95°	1 ml
- Rouge de phénol à 1%	0,25 ml
- eau distillée	100 ml
- filtration sur bougies et répartition en ampoules.	

Ce milieu permet d'effectuer la recherche de l'uréase, de la production d'indole au moyen du réactif de Kovacs et de la tryptophane désaminase.

7 - Milieu synthétique au citrate de Simmons

- chlorure de sodium	5 g
- sulfate de magnésium	0,2 g
- phosphate mono ammonique	1 g
- phosphate biphosphorique	1 g
- citrate de sodium	5 g
- bleu de bromothymol	0,08 g
- gélose	20 g
- eau distillée	1000 ml

Ajuster à pH 7. Stériliser 15 mn à 115°C.

8 - Milieu mannitol-mobilité

- peptone tryptique de viande	20 g
- gélose	4 g
- mannitol	2 g
- KNO ₃	1 g
- rouge de phénol à 1%	4 ml
- eau	1000 ml

Stériliser 15 minutes à 115°C.

9 - Recherche de la protéolyse de la gélatine

Nous utilisons la technique du film photographique.

10 - Milieu de Hugh et Leifson

La distinction entre les souches oxydatives et les souches fermentaires se fera par l'épreuve de Hugh et Leifson.

- peptone pancréatique de caséine	2 g
- Na Cl	5 g
- K ₂ H PO ₄	0,3 g
- agar	3 g
- bleu de bromothymol (solution aqueuse à 0,2 p.100)	15 ml
- eau distillée q.s.p.	1000 ml

Ajuster pH 7,4 - 7,6. Autoclaver 15 minutes à 115°C.

b) Les tests biochimiques d'identification

Les bactéries seront caractérisées, d'une part, par les réactions classiques :

- recherche d'une catalase par l'eau oxygénée,
- présence d'une β galactosidase par les disques préparés par l'Institut Pasteur contenant de l'orthonitrophényl BD galactopyranoside (O.N.P.G.) qui hydrolyse comme le lactose par la β galactosidase libère de l'orthonitrophénol de couleur jaune,
- présence d'une oxydase par le réactif de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine.

D'autre part, nous avons utilisé les tests "Pathotec" * pour l'identification rapide de certaines bactéries Gram négatif. Ces tests permettent d'étudier les critères suivants :

- Pathotec-co : la cytochrome oxydase,
- Pathotec- u : l'uréase,
- Pathotec-PD : la phénylalanine désaminase,
- Pathotec-LD : la lysine décarboxylase,
- Pathotec- I : l'indole,
- Pathotec-VP : la réaction de Voges-Proskauer,
- Pathotec- C : la fermentation du citrate.

Techniques sur plaques

Cette technique permet d'étudier la dégradation de nombreux substrats : sucres et acides aminés, par les bactéries isolées.

. Solution de substrat

- | | |
|--------------------------------------|-------|
| - substrat | 75 mg |
| - H ₂ O distillée stérile | 5 ml. |

. Milieu synthétique

- | | |
|--|----------|
| - PO ₄ K H ₂ | 13,6 g |
| - SO ₄ (NH ₄) 2 | 2 g |
| - SO ₄ Mg, 7 H ₂ O | 0,2 g |
| - SO ₄ Fe, 7 H ₂ O | 0,0005 g |
| - eau distillée q.s.p. | 1000 ml |

Ajuster à pH 7,2 avec KOH. Autoclaver 20 minutes à 115°C.

* PATHOTEC-PRECIPIO, 2, rue Lhomond, Paris V°.

. Plaques : Ce sont des plaques LINBRO FB 54.

. Liste de substrats employés :

- | | |
|----------------------|------------------------|
| 1 - Adonitol | 13 - Inuline |
| 2 - Amidon | 14 - D(+)lactose |
| 3 - D(-)Arabinose | 15 - D(-)Mannitol |
| 4 - D(+)Cellobiose | 16 - D Mannose |
| 5 - Dextrine blanche | 17 - Raffinose |
| 6 - Dulcitol | 18 - L(+)Rhamnose |
| 7 - Meso erythritol | 19 - D(+)Saccharose |
| 8 - Esculine | 20 - Salicine |
| 9 - D(-)Fructose | 21 - D(-)Sorbitol |
| 10 - D(+)Glucose | 22 - L(-)Sorbose |
| 11 - Glycogène | 23 - L(-)Xylose |
| 12 - Meso inositol | |
| 31 - L(+)α Alanine | 44 - L-Leucine |
| 32 - B alanine | 45 - L+Lysine |
| 33 - Allantoïne | 46 - L(-)Methionine |
| 34 - L(+)Arginine | 47 - L(+)Ornithine |
| 35 - L(-)Asparagine | 48 - L(-)Phénylalanine |
| 36 - Bétaïne | 49 - L(-)Proline |
| 37 - Creatine | 50 - L(-)Serine |
| 38 - L(+)Cysteïne | 51 - L(-)Threonine |
| 39 - L(-)Cystine | 52 - DL Threonine |
| 40 - Glycocolle | 53 - L Tryptophane |
| 41 - L(-)Histidine | 54 - Urée |
| 42 - L(+)Isoleucine | 55 - L(+)Valine |
| 43 - DL isoleucine | 56 - DL Valine |

B - Méthodologie

L'expérimentation de notre pilote est divisée en trois grandes périodes (tableau V) :

- étude de la dégradation du phénol
- étude de la dégradation d'un effluent mixte phénol+DMSO
- essais d'améliorer le rendement d'épuration en ensemençant une souche d'Aerobacter aerogenes.

1) Première période : Etude de la dégradation du phénol

Le présent chapitre a pour but, d'une part, de tester le bon fonctionnement du pilote permettant la dégradation du phénol, d'autre part, d'étudier l'évolution de la boue activée lorsqu'on change le polluant.

a) Origine des boues activées

Les boues activées proviennent du bassin d'aération de la station d'épuration de la raffinerie "Elf" de Feyzin. L'effluent alimentant la station contenait essentiellement un mélange d'hydrocarbures et de phénol à la dose de 10 ppm. Ces boues sontensemencées directement dans notre pilote; on alimente ensuite pendant deux mois la station à l'aide d'un polluant artificiel pour acclimater les bactéries avant d'effectuer l'étude chimique de l'épuration. Ce polluant est constitué de phénol officinal à la concentration de 10 ppm additionné de phosphate disodique et d'ammoniaque en quantité suffisante pour obtenir un pH voisin de la neutralité. Ce temps d'acclimatation correspond à la phase A de l'expérimentation. Pendant la phase C et les 2ème et 3ème périodes, nous augmenterons les concentrations de phénol, comme l'indique le tableau V.

b) Prélèvements

Nous avons effectuer deux prélèvements en vue d'étudier la biocenose bactérienne; le premier au début de la phase A, le deuxième à la fin de la phase C de cette première période.

La boue à étudier est prélevée dans le bassin d'aération de notre pilote, après une aération maximum, de façon à obtenir un prélèvement homogène. On centrifuge la boue 5 mn à 1000 t/mn, vitesse lente pour ne pas détruire la paroi bactérienne, puis on dissocie le culot de centrifugation au mortier stérile, suivant la technique préconisée par POCHON et TARDIEU (130). Il faut noter que certains auteurs, tels que YIN (170) utilisent des dispersants chimiques. On prélève 1 ml de cet homogénat que

l'on mélange à 9 ml d'eau distillée stérile. A partir de cette dilution à 10^{-1} , on dilue jusqu'à 10^{-9} . Ces dilutions seront utilisées pour la numération des germes totaux d'une part, et pour l'isolement d'autre part.

c) Numération des germes totaux

Les suspensions de germes sont ensemencées sur gélose nutritive et sur milieu à l'extrait de boue. On compte, après passage à l'étuve, le nombre de colonies apparues sur les boîtes à trois dilutions différentes, puis, on effectue la moyenne des chiffres obtenus.

d) Isolement des bactéries

Chaque dilution préparée précédemment est ensemencée par la technique des quadrants, en vue de l'isolement des bactéries, d'une part sur gélose nutritive, d'autre part sur gélose à l'extrait de boue.

Les cultures sur gélose nutritive sont examinées au bout de 48 heures, alors que les cultures sur gélose à l'extrait de boue sont très lentes à pousser (6 à 8 jours à 28°C); le milieu à l'extrait de boue étant très pauvre en facteurs de croissance. Nous obtenons d'autre part sur ce milieu des colonies très fines difficiles à observer.

Les différents types de colonies seront observés à la loupe, puis chaque colonie sera mise en suspension dans 0,4 ml d'eau distillée stérile en vue d'un nouvel isolement sur gélose nutritive en tube et en boîte. Les cultures sont placées 24 heures à 28°C .

e) Identification

Les germes seront identifiés selon les critères classiques :

- 1) étude morphologique des colonies
- 2) étude microscopique des germes. Cet examen se fait entre lame et lamelle à l'état frais en vue de déterminer la mobilité du germe. Dans certains cas favorables nous pourrions différencier une mobilité due à une ciliature polaire d'une ciliature péritriche. Dans le cas d'un germe immobile nous pourrions rechercher la présence d'une capsule par la technique à l'encre de chine. Enfin, l'étude du caractère "Gram positif" ou "Gram négatif" de la bactérie sera faite selon la coloration de Gram préconisée par POCHON (130) pour les bactéries du sol.
- 3) identification biochimique : Le problème est d'avoir à notre

disposition un certain nombre de caractères permettant de déterminer une véritable "carte d'identité" du germe à étudier. Nous utiliserons deux types de méthode, d'une part, les techniques classiques, d'autre part, les techniques sur plaques.

α) Techniques classiques

Nous utilisons ici les milieux énoncés ci-dessus. Ces milieux nous permettront de définir les propriétés suivantes :

. à partir du milieu de Hajna

- fermentation du glucose
- fermentation du lactose
- production d' H_2S
- production de gaz
- présence d'une β galactosidase
- présence d'une lysine décarboxylase

. à partir du bouillon nitrate on recherche la présence d'une nitrate réductase ou d'une nitrite réductase par les deux réactifs à base d'acide sulfanilique et de diméthyl- α -naphtylamine. Une réaction positive se traduit par une couleur rouge, mais si elle est négative il est prudent de contrôler que ceci n'est pas dû à un pouvoir réducteur très puissant de la bactérie en étude qui aurait fait dépasser à la réaction le stade des nitrites.

. à partir de la gélose profonde, on détermine si le germe est aérobie strict, microaérophile, aéro-anaérobie ou anaérobie.

. à partir du milieu urée-indole on recherche la présence d'une uréase se traduisant par une alcalinisation du milieu qui prend une teinte rouge, la production de l'indole au moyen du réactif de Kowacs, et éventuellement la présence d'une tryptophane désaminase qui transforme le tryptophane du milieu en acide indolpyruvique donnant une coloration rouge avec le perchlorure de fer.

. le milieu mobilité-mannitol permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité du germe par piqûre centrale dans le milieu. Il faut signaler que ce test ne permet pas d'étudier la mobilité de germes aérobies stricts.

. milieu synthétique au citrate de Simmons pour déterminer les germes capables d'utiliser le citrate de sodium.

. épreuve de Hugh et Leifson pour différencier les germes oxydatifs des germes fermentatifs.

. protéolyse de la gélatine.

. présence d'une oxydase par le réactif de chlorhydrate de diméthyl paraphénylène diamine.

. présence d'une catalase.

β) Les techniques en plaques

La souche à étudier est isolée sur gélose nutritive. Une anse de cette culture est mise en suspension dans 20 ml de milieu synthétique de façon à obtenir une solution à peine trouble. On introduit dans chaque trou de la plaque 0,4 ml de suspension bactérienne et 0,1 ml de la solution de substrat, de façon à obtenir la concentration finale de substrat de 3 g/l préconisée par STANIER et coll. (156) dans leurs études sur les *Pseudomonas*.

Les plaques ont été préalablement stérilisées par action des rayons ultra-violets. Celles-ci sont mises dans des bacs en plastique stériles recouverts d'une plaque de verre pour éviter les contaminations, et on les incube à l'étuve pendant 48 heures à 28°C.

Toutes ces manipulations se font dans une enceinte stérile (chambre climatisée sous ultra-violet). La lecture se fait en appréciant la pousse de la bactérie par rapport à des témoins sans substrat.

Cette technique permet d'étudier assez rapidement l'utilisation d'une cinquantaine de substrats qui donnent une véritable carte d'identité du germe à étudier. Cette carte d'identité permettra de suivre l'évolution de notre germe au sein de la biocénose lorsque nous modifions les polluants.

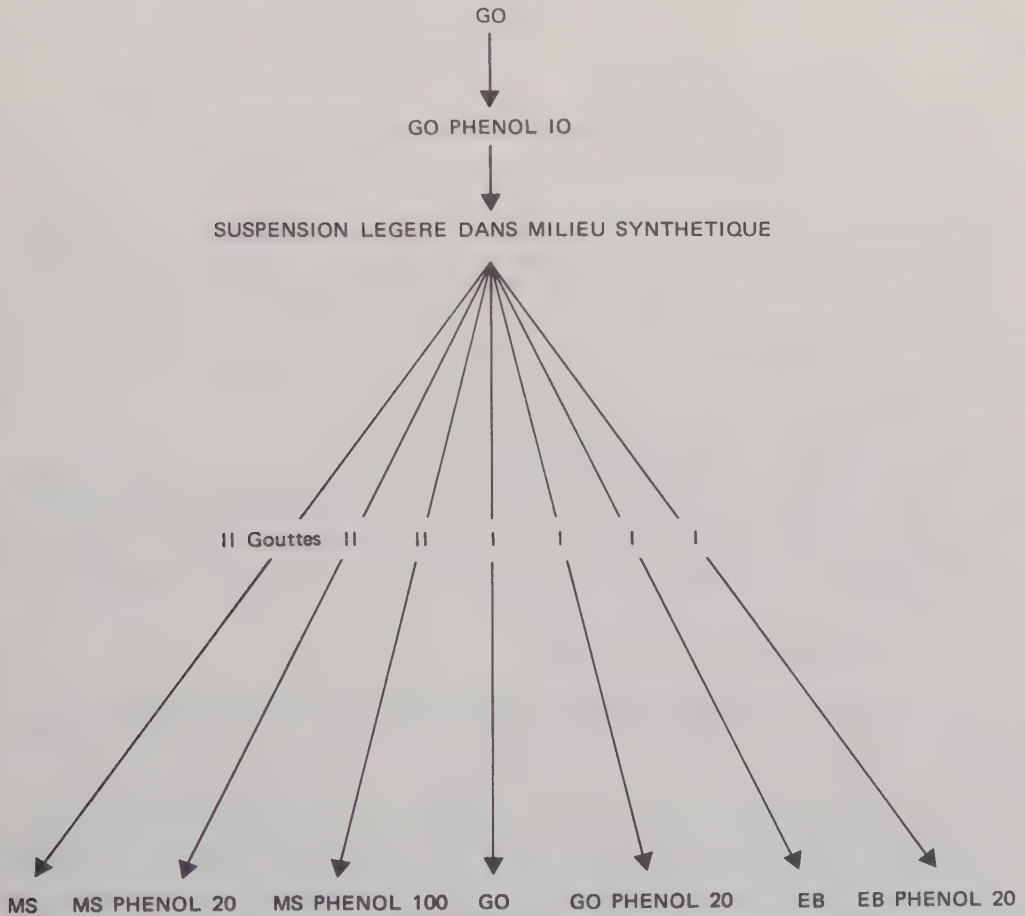
f) Etude du phénol en tant que facteur de croissance

Dans ce paragraphe nous étudions, d'une part, la toxicité éventuelle du phénol vis-à-vis de certaines souches, d'autre part, le phénol en tant que facteur de croissance.

Le phénol est incorporé à différents milieux, puis le germe à étudier est ensemencé sur les milieux suivants :

- G0 : gélose nutritive
- G0 phénol 20 : gélose nutritive + 20 ppm de phénol
- MS : milieu synthétique décrit au chapitre précédent
- MS phénol 20 : milieu synthétique additionné de 20 ppm de phénol
- MS phénol 100: " " additionné de 100 ppm de phénol
- EB phénol 20 : milieu extrait de boue + 20 ppm de phénol.

Dans un premier temps, les différentes souches sont ensemencées en masse sur un milieu GO phénol 10, à partir d'une gélose en tube. On laisse 24 heures à 28°C. Puis à partir de la gélose ordinaire phénol 10, on fait une suspension à peine trouble dans du milieu synthétique. On ensemence ensuite la suspension suivant le tableau IV.



TABEAU IV - Schéma d'étude du phénol en tant que facteur de croissance.

On évalue qualitativement la pousse dans les différents milieux par rapport aux témoins.

2) Deuxième période : Etude de la dégradation d'un effluent mixte phénol + DMSO

Devant les résultats obtenus au chapitre précédent, nous avons ici, d'une part, augmenté les concentrations en phénol et, d'autre part, ajouté à l'effluent du diméthylsulfoxyde ou DMSO.

a) Mesures techniques

Cette deuxième période d'étude peut être divisée en deux phases D et E.

- La phase D dure 1 mois. Au début de cette phase la station est alimentée par un polluant artificiel formé de phénol officinal à la concentration de 100 à 150 ppm, de DMSO à la concentration de 10 ppm, additionnés de phosphate disodique et d'ammoniaque en quantité suffisante pour obtenir un pH voisin de la neutralité. Nous utilisons cette phase D en vue d'acclimater les bactéries à la biosynthèse du DMSO.

- A la phase D, succède la phase E, longue de 11 jours pendant laquelle nous effectuons une fois par jour, à l'entrée et à la sortie de la station, les mesures de pH, les tests de DBO, DCO, et dosages de phénol et DMSO décrits au chapitre précédent.

b) Etude bactériologique

Nous avons effectué un prélèvement bactériologique à la fin de la phase E, en vue d'étudier la biocénose bactérienne.

Nous avons utilisé ici les mêmes techniques décrites au chapitre précédent, lors de la première période, mais devant la difficulté de cultiver les bactéries sur milieu à l'extrait de boue, nous avons utilisé pour la numération des germes totaux et pour l'isolement la gélose nutritive.

Pour l'étude du phénol et du DMSO en tant que facteur de croissance, nous avons utilisé le milieu synthétique contenant des doses croissantes de DMSO, 10, 20, 30, 50, 100 et 200 ppm, et une autre série de tubes contenant en plus du phénol à la concentration de 100 ppm. Nous voulons ainsi déterminer si les souches isolées peuvent utiliser le phénol ou le DMSO comme seule source de carbone.

3) Troisième période : Essais d'améliorer le rendement d'épuration en ensemençant une souche d'Aerobacter aerogenes

a) Mesures techniques

L'effluent alimentant la station a la même composition que celui de la deuxième période.

Au début de la phase F, nous avonsensemencé les boues du bassin d'aération avec 100 ml en bouillon nutritif d'une culture de 18 heures d'Aerobacter aerogenes LO 1314 qui, selon les références, serait capable de dégrader le DMSO. Nous avons attendu trois jours pour permettre à la souche de se multiplier dans le milieu, puis pendant dix-neuf jours nous avons effectué les dosages physico-chimiques.

b) Etude bactériologique

Nous avons utilisé les mêmes procédés que précédemment. La souche d'Aerobacter aerogenes a été étudiée en utilisant le milieu synthétique.

CHAPITRE VI

R E S U L T A T S

Nous avons réalisé notre expérimentation en trois périodes, comme l'indique le tableau V. La première période, qui étudie la dégradation du phénol, est elle-même divisée en trois phases A, B et C d'une durée respective de 2 mois, 10 jours, et 18 jours. La deuxième période, qui étudie la dégradation d'un effluent composé de phénol et de D.M.S.O., se divise en deux phases, D et E, respectivement d'une durée de 1 mois et de 11 jours. Enfin, la dernière période qui recherche l'amélioration du rendement d'épuration par l'ensemencement d'une souche d'Aerobacter aerogenes, ou phase F a une durée de 15 jours.

Les conditions expérimentales de l'appareil pilote sont les suivantes :

Débit de l'eau (l/h)	Débit d'air (l/h)	Vitesse de l'agitation (t/mn)	Débit de recyclage (l/h)	Température (degrés C°)	Volume d'aération (en l)	Volume de décantation (en l)
1	45	1.000	1	28	8	2

PERIODE		1			2		3*
Concentration du polluant en ppm	Phénol	10	10	50-70	50-70		100-150
	DMSO	0			10		10
Phase		A	B	C	D	E	F
Durée en jours	x 60	10	18 x	30	11 x	15 x	

TABLEAU V - Plan de l'expérimentation

* Ensemencement par *Aerobacter aerogenes*
 x Prélèvement pour étude bactériologique.

I - PREMIERE PERIODE : Etude de la dégradation du phénol

Nous envisagerons d'une part les résultats des dosages physico-chimiques, d'autre part, les résultats bactériologiques.

1) - Résultats des épreuves physico-chimiques

Pour juger de l'efficacité de l'épuration, nous avons effectué les mesures de pH, les tests de D.B.O., D.C.O. et les dosages des phénols, d'après les méthodes que nous avons décrites au chapitre précédent.

Pendant la première partie de notre expérimentation, étapes correspondant aux phases A et B, la concentration en phénol était faible, de l'ordre de 10 ppm. L'épuration étant satisfaisante, nous avons alors augmenté les concentrations en phénol jusqu'à 70 ppm. (phase C du tableau V).

Les résultats obtenus pendant la phase B, notamment les dosages des phénols à l'entrée et à la sortie de la station ont été indiqués dans le tableau VI.

Jours	Concentration en phénols à l'entrée de la station (en mg/l)	Concentration en phénols à la sortie de la station (en mg/l)
1	8,8	0,016
2	8,8	0,019
3	8,9	0,016
4	9	0,016
5	9,6	0,010
8	9,8	0,008
9	9,7	0,007
10	9,9	0,005

TABLEAU VI - Etude de la dégradation du phénol pendant la phase B.

Nous pouvons remarquer que, pendant cette phase d'adaptation de la biocenose bactérienne à dégrader le phénol, nous obtenons une très bonne épuration pour une charge polluante faible.

Au cours de la phase C, les examens qui permettaient de tester l'épuration furent plus nombreux : D.B.O., D.C.O., pH, phénols. Les résultats correspondants ont été indiqués dans le tableau VII et la figure 8. Ce tableau montre l'épuration très importante de l'effluent à la sortie de la station :

. L'effluent artificiel d'entrée est extrêmement pollué :

- pH alcalin
- $\text{DBO}_5 \geq 24 \text{ mg/l}$
- $\text{DCO} \geq 38 \text{ mg/l}$
- phénol $\geq 40 \text{ mg/l}$

L'effluent de sortie est correctement épuré :

- neutralité du pH
- DBO_5 entre 2,3 mg/l et 20 mg/l
- DCO entre 20 et 52 mg/l
- phénol $\leq 0,005 \text{ mg/l}$ dans tous les cas sauf pour des quantités importantes à l'entrée de la station $\geq 70 \text{ mg/l}$.

. Il existe une proportionnalité entre la DBO_5 et la DCO . Le rapport $\frac{\text{DCO}}{\text{DBO}_5}$ pouvant être de 10 dans les faibles quantités jusqu'à 2 dans les fortes quantités.

. On remarque une augmentation de la DBO_5 et de la DCO en rapport avec la quantité de phénol.

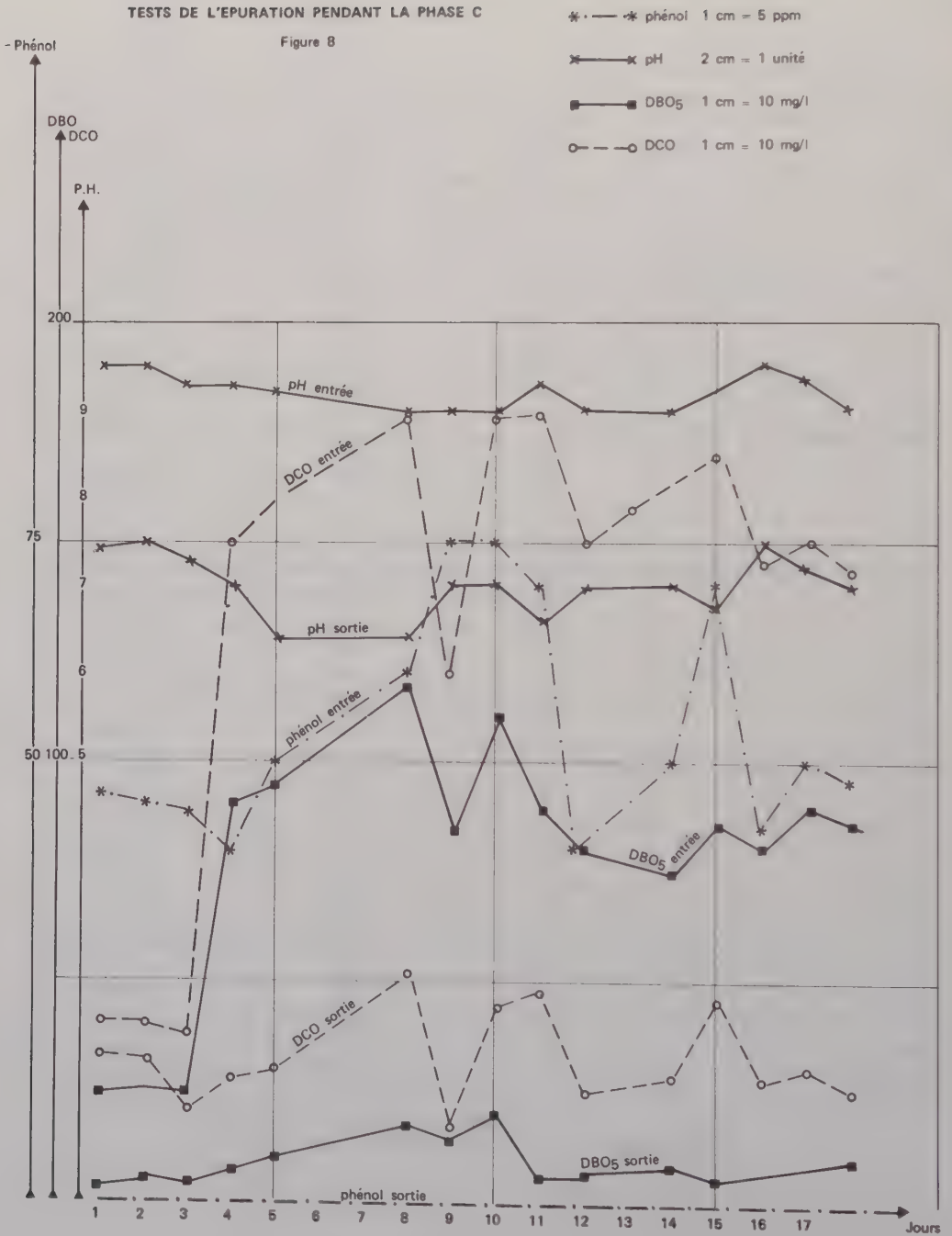
Jours		pH	DBO (en mg/l)	DCO (en mg/l)	Phénols (en mg/l)
1°	E S	9,5 7,4	24 2,8	40 33	46 0,005
2°	E S	9,5 7,5	25 3	40 32	45 0,005
3°	E S	9,3 7,3	24 2,3	38 20	44 0,005
4°	E S	9,3 7	87 6,2	150 28	40 0,005
5°	E S	9,2 7	95 10	160 30	50 0,005
8°	E S	9 6,4	118 18	180 52	60 0,005
9°	E S	9 7	84 14	120 13	75 0,013
10°	E S	9 7	120 20	180 45	75 0,013
11°	E S	9,3 6,6	90 6	180 48	70 0,040
12°	E S	9 7	80 6	150 25	40 0,005
14°	E S	9 7	75 8	158 28	50 0,005
15°	E S	9,2 6,8	85 5	170 45	70 0,015
16°	E S	9,5 7,5	80 6	145 23	42 0,005
17°	E S	9,3 7,2	90 7	150 25	50 0,005
18°	E S	9 7	85 10	143 20	48 0,005

TABLEAU VII - Tests de l'épuration de la station.

E = entrée de la station pilote
S = sortie de la station pilote.

TESTS DE L'EPURATION PENDANT LA PHASE C

Figure 8



2) - Résultats bactériologiques

A - Etude du premier prélèvement : phase A.

1) Numération des germes totaux :

Les numérations des germes totaux ont été réalisées d'une part sur l'eau après décantation de la boue, d'autre part sur la boue.

- a) sur l'eau : L'examen direct après coloration permet de mettre en évidence une majorité de bacilles Gram négatif, et de rares bacilles et cocci Gram positif.
Sur gélose ordinaire, on dénombre $1,1.10^6$ bactéries/ml, après 24 heures d'étuve à 28°C.
- b) sur la boue : L'examen direct, puis la coloration de Gram montrent que les germes sont plus nombreux dans le floculum. En effet sur la gélose ordinaire, on compte jusqu'à 4.10^8 germes/ml après 24 heures d'étuve à 28°C.
Avec de la gélose à l'extrait de boue, on trouve $2,5.10^8$ germes/ml, après 6 jours d'étuve à 28°C. Il faut remarquer que, la gélose à l'extrait de boue étant pauvre en facteurs de croissance, le métabolisme bactérien est réduit et les colonies sont plus longues à apparaître.

2) Etude des caractères physico-chimiques des bactéries isolées.

- a) Isolement sur gélose nutritive : A partir de ce milieu, nous avons isolé 6 types de bactéries (A_1 à A_6 , tableau VIII), se développant en 24 heures à 28°C.
- b) Isolement sur milieu à l'extrait de boue : Les colonies n'apparaissent qu'après 6 à 8 jours d'étuve à 28°C. Nous avons isolé seulement cinq types de colonies (AB_1 à AB_5 , tableau IX), de taille généralement très petite. Celles-ci sont reprises et ensemencées sur gélose nutritive où elles poussent en 24 heures à 28°C. Les caractères physico-chimiques correspondants ont été indiqués dans le tableau IX.
- c) Identification par la technique des plaques : Devant les difficultés à identifier par les méthodes classiques les bactéries que nous avons isolées, A_1 et A_5 par exemple (tableau VIII), nous avons recherché leur capacité à dégrader de nombreux substrats, (tableau XI) pour accroître le nombre de paramètre d'identification.

L'étude des tableaux VIII et IX nous conduit aux conclusions suivantes :

- les bactéries isolées sur gélose nutritive sont différentes de celles isolées sur milieu à l'extrait de boue.
- la majorité de ces bactéries sont des bactéries Gram négatif, le plus souvent mobile, en général aérobies stricts, d'où la difficulté à mettre en évidence leur mobilité par l'emploi du milieu "gélose-mobilité".
- on observe toujours dans la biocénose une espèce dominante.

3) - Etude du phénol en tant que facteur de croissance

Ce test permet d'étudier, d'une part la toxicité du phénol vis-à-vis des souches isolées, en incorporant du phénol à la gélose nutritive, d'autre part, d'étudier le phénol en tant que facteur de croissance en l'ajoutant au milieu synthétique.

Les résultats obtenus, consignés dans le tableau XII montrent que les bactéries isolées à partir des boues activées peuvent pousser avec le phénol comme seule source de carbone. Ces résultats confirment la bonne épuration que nous obtenons avec un effluent composé uniquement de phénol.

Souches	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆
Morphologie	bacille	bacille	coccobacille	bacille	bacille	coccus
Gram	-	-	-	-	-	+
Ciliature	+	-	+	-	+	-
Oxydase	+	-	-	-	+	-
Catalase	+	+	+	-	+	+
V F	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aéro anaérobie
HAJNA (glucose lactose H ₂ S gaz)	-	-	-	-	-	+
	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	+	-
	-	-	-	-	-	-
β galactosidase	-	+	-	+	-	+
L D C	+	+	+	+	+	-
Mobilité	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-
MEVAG (oxydatif	-	+	-	+	-	+
GLUCOSE (fermentatif	-	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	⁺ N ₀₂	⁺ N ₂	-	-	⁺ N ₀₂	⁺ N ₂
Uréase	-	-	-	-	-	+
Indol	-	-	-	-	-	-
Citrate Simmons	+	+	-	+	+	-
Gélatine	-	-	+	-	-	-
Pourcentage	58%	23%	12%	4%	2%	1%

TABLEAU VIII - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur gélose nutritive.

Souches	AB ₁	AB ₂	AB ₃	AB ₄	AB ₅
Morphologie	bacille	bacille	bacille	bacille	bacille
Gram	-	-	-	-	-
Ciliature	+	+	-	-	-
Oxydase	-	+	-	+	-
Catalase	+	+	+	+	+
V F	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aéro anaérobie
HAJNA	(glucose	-	-	-	+
	(lactose	-	-	-	-
	(H ₂ S	+	+	+	-
	(gaz	-	-	-	-
β galactosidase	-	-	-	-	+
L D C	+	+	+	+	-
Mobilité	(-)	(-)	(-)	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-
MEVAG (oxydatif	-	-	-	-	+
GLUCOSE (fermentatif	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	+N ₂	-	-	+NO ₂	-
Uréase	-	-	-	+	+
Indol	-	-	-	-	-
Citrate Simmons	-	-	-	+	-
Gélatine	-	-	-	-	-
Pourcentage	67%	12%	10%	6%	5%

TABLEAU IX - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur milieu à l'extrait de boue.

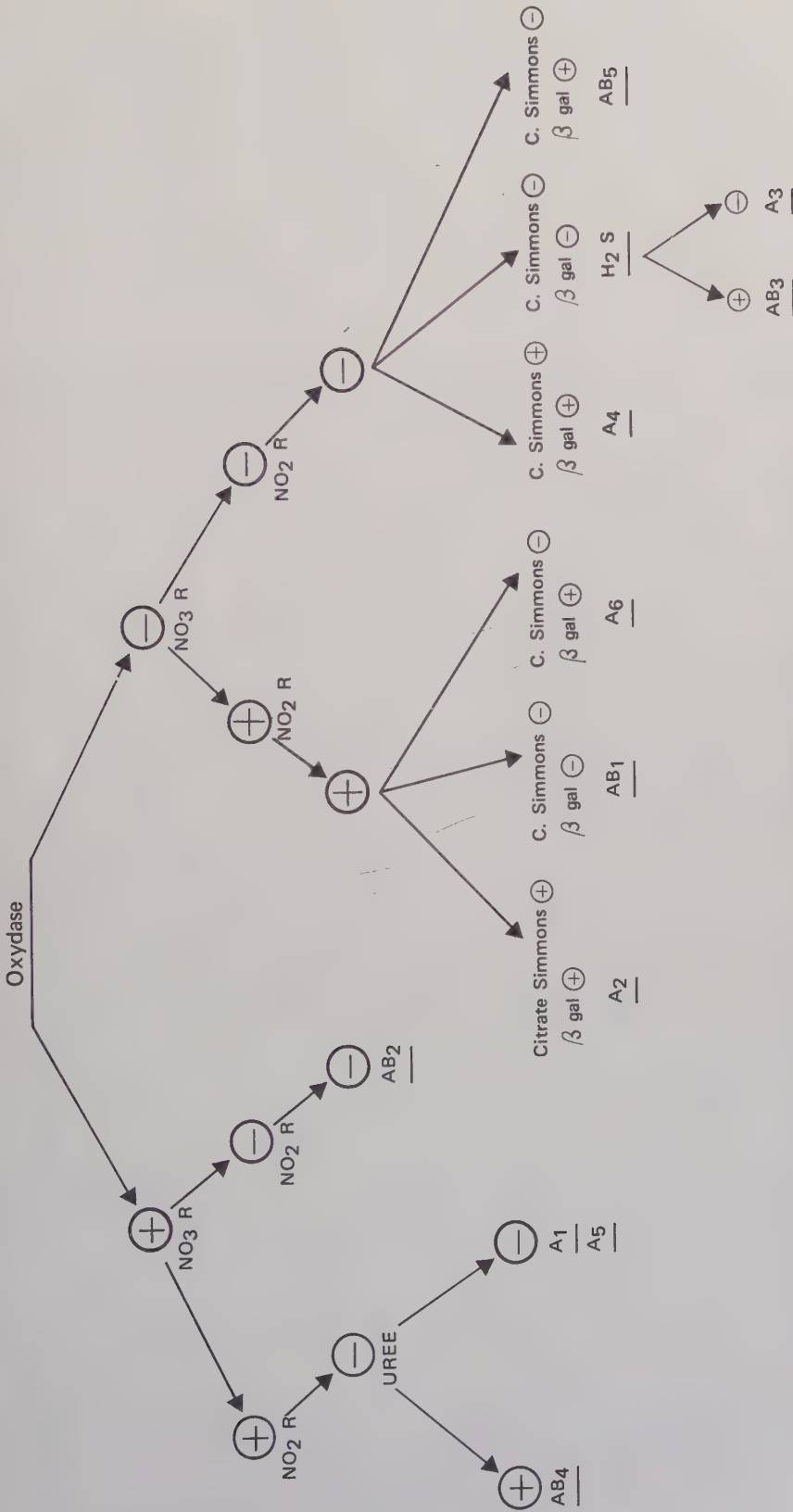


Tableau X

CARACTERES BIOCHIMIQUES DES DIFFERENTES COUCHES ISOLEES

Souches	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	AB ₁	AB ₂	AB ₃	AB ₄	AB ₅
Substrats										
Adonitol					+					
Amidon					+					
D(-)Arabinose					+					
D(+)Cellobiose		+	+		+		+			
Dextrine	+	+	+		+					+
Dulcitol					+					
Meso Erythritol					+					
Esculine						+	+	+	+	
D(-)Fructose		+	+		+					
D(+)Glucose	+	+		+	+	+	+			
Glycogène		+	+							+
Meso Inositol		+	+		+					
Inuline			+		+					+
D(+)Lactose		+								
D(-)Mannitol	+	+			+					
D Mannose	+	+			+	+				
Raffinose		+								+
L(+)Rhamnose					+					
D(+)Saccharose		+			+					
Salicine										
D(-)Sorbitol		+			+					
L(-)Sorbse										
L(-)Xylose										
L(+)α Alanine	+	+		+		+	+	+	+	
β Alanine			+				+			
Allantoïne										
L(+)Arginine	+	+	+	+		+	+	+	+	
L(-)Asparagine	+	+	+			+	+	+	+	
Betaïne	+	+	+							
Creatine		+								
L(+)Cystéïne										
L(-)Cystine										
Glycocolle	+	+		+						
L(-)Histidine	+	+	+			+	+	+	+	+
L(+)Isoleucine	+					+				
DL Isoleucine	+									+
L(-)Leucine	+	+		+		+	+		+	+
L(+)Lysine		+	+							+
L(-)Methionine										
L(+)Ornithine			+				+			
L(-)Phenylalanine	+	+				+	+	+	+	
L(-)Proline	+	+	+	+		+	+	+	+	
L(-)Serine	+	+					+			
L(-)Threonine		+								+
DL Threonine		+								+
L Tryptophane				+		+	+	+	+	
Urée										
L(+)Valine	+									
DL Valine	+									

TABLEAU XI - Utilisation de substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive A₁ à A₅ et sur milieu à l'extrait de boue AB₁ à AB₅.

Milieu Souches	M.S.	M S phénol 20	M S phénol 100	G O	G O phénol 20	E B	E B phénol 20
A ₁	0	+	++	++	++	+	+
A ₂	0	0	++	+++	+++	+	+
A ₃	0	0	++	+++	+++	+	+
A ₄	0	+	++	++	++	+	+
A ₅	0	+	++	+++	+++	+	+
A ₆	0	0	++	+++	+++	0	0
AB ₁	0	0	++	+++	+++	+	+
AB ₂	0	+	++	+++	+++	+	+
AB ₃	0	0	++	++	+++	+	+
AB ₄	0	+	++	++	+++	+	+
AB ₅	0	0	++	+++	+++	0	0

TABLEAU XII - Utilisation du phénol comme seule source de carbone par les bactéries isolées lors de la phase A.

0 = Absence de croissance

+ = croissance faible

++ à +++ = croissance abondante.

B - Etude du deuxième prélèvement : phase C.

1) Numération des germes totaux :

A la fin de la phase C, nous avons effectué des numérations des germes totaux à partir de la boue, sur gélose nutritive et sur milieu à l'extrait de boue.

Dans le premier cas, nous obtenons $7,9 \cdot 10^7$ bactéries/ml, après 48 heures à 28°C .

Sur gélose à l'extrait de boue et après une semaine à 28°C , nous obtenons $4,5 \cdot 10^8$ bactéries/ml.

2) Etude physico-chimique des bactéries isolées :

- a) Isolement sur gélose nutritive : Sur ce milieu après 24 h à 28°C , nous avons isolé cinq types de colonies, CC₁ à CC₅ dont les caractères ont été rapportés dans le tableau XIII.
- b) Isolement sur milieu à l'extrait de boue : Trois types seulement de bactéries, à colonies très petites, poussant en une semaine à 28°C ont été isolées, CD₁, CD₂ et CD₃. Leurs propriétés ont été indiquées dans le tableau XIV.
- c) Identification par la technique des plaques : Dans l'étude de la dégradation des substrats par les deux séries de bactéries CC et CD, nous avons obtenu les résultats indiqués dans le tableau XV.

L'étude des tableaux XIII, XIV et XV nous amène aux conclusions suivantes :

- Lors du prélèvement de la phase C₁, avec des concentrations plus élevées en phénol, nous n'identifions pas les mêmes souches que pendant la phase A. On assiste ainsi à une évolution continue de la biocénose bactérienne.
- Les bactéries sont des bacilles Gram négatif, mobile, aérobie strict sauf pour CD₂ qui est microaérophile, possédant une oxydase, appartenant le plus souvent à la famille des Pseudomonadaceae.
- On note toujours la présence d'une espèce dominante, CC₁ pour le tableau XIII et CD₁ pour le tableau XIV.
- Les conditions écologiques du milieu entraînent ainsi une sélection naturelle des bactéries présentes.

Souches	CC ₁	CC ₂	CC ₃	CC ₄	CC ₅
Morphologie	bacille	bacille	bacille	bacille	coccobacille
Gram	-	-	-	-	-
Ciliature	polaire +	+	polaire +	-	+
Oxydase	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+
V F	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict
HAJNA	(glucose	-	-	-	-
	(lactose	-	+lent	-	-
	(H ₂ S	-	-	-	-
	(gaz	-	-	-	-
β galactosidase	-	+	-	-	+
L D C	+	+	+	+	+
Gélose mobilité	(-)	(-)	(-)	-	(-)
Mannitol	-	-	-	-	-
MEVAG (oxydatif	alcalinisé	+	alcalinisé	alcalinisé	alcalinisé
GLUCOSE (fermantatif	-	-	-	-	-
Nitrate réductase	+NO ₂	-	+NO ₂	-	+NO ₂
Uréase	+	-	+	+	-
Indole	-	-	-	-	-
Citrate Simmons	+	+	+	-	-
Gélatine	-	+	-	-	-
Pourcentage	60%	3%	18%	12%	7%

TABLEAU XIII - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase C sur gélose nutritive.

Souches	CD ₁	CD ₂	CD ₃
Morphologie	coccobacille	coccobacille	bacille
Gram	-	-	-
Ciliature	+	+	+
Oxydase	+	+	+
Catalase	+	+	+
V F	aérobie strict	micro aéroophile	aérobie strict
HAJNA (glucose lactose H ₂ S gaz)	-	-	-
	-	-	-
	+	-	-
	-	-	-
β galactosidase	-	+	-
L D C	+	-	+
Gélose mobilité	(-)	+	+
Mannitol	-	+	-
MEVAG (oxydatif	-	-	alcalinisé
GLUCOSE (fermentatif	-	-	-
Nitrate réductase	-	+ NO ₂	-
Uréase	+	+	+
Indol	-	-	-
Citrate Simmons	+	-	+
Gélatine	+	+	+
Pourcentage	73%	18%	9%

TABLEAU XIV - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur milieu à l'extrait de boue pendant la phase C.

Souches	CC ₁	CC ₂	CC ₃	CC ₄	CC ₅	CD ₁	CD ₂	CD ₃
Substrats								
Adonitol	+		+	+		+	+	
Amidon								+
D(-)Arabinose			+	+		+	+	
D(+)Cellobiose	+	+	+			+	+	
Dextrine		+	+	+	+			
Dulcitol	+		+			+		+
Meso Erythritol								
Esculine								
D(-)Fructose	+	+	+	+		+	+	
D(+)Glucose		+	+			+	+	+
Glycogène		+						
Meso Inositol		+			+	+		+
Inuline		+			+		+	+
D(+)Lactose		+			+			
D(-)Mannitol		+	+	+		+	+	
D Mannose								
Raffinose		+	+			+	+	
L(+)Rhamnose			+		+		+	
D(+)Saccharose		+	+			+	+	
Salicine					+		+	
D(-)Sorbitol								
L(-)Sorbose							+	+
L(-)Xylose								
L(+)α Alanine		+		+		+	+	
β Alanine	+					+	+	+
Allantoïne								
L(+)Arginine	+	+	+			+	+	
L(-)Asparagine		+	+	+				+
Bétaïne			+			+	+	
Creatine		+		+				
L(+)Cystéine								
L(-)Cystine					+			
Glycocolle		+			+			
L(-)Histidine		+	+	+		+		
L(+)Isoleucine		+						+
DL Isoleucine		+			+			
L(-)Leucine		+					+	
L(+)Lysine		+						
L(-)Méthionine							+	
L(+)Ornithine	+		+			+		
L(-)Phénylalanine		+						
L(-)Proline		+	+			+	+	+
L(-)Serine			+	+		+	+	
L(-)Threonine		+						
DL Threonine		+						
L Tryptophane	+	+				+		+
Urée								
L(+)Valine								
DL Valine								

TABLEAU XV - Utilisation des substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive CC₁ à CC₅ et sur milieu à l'extrait de boue CD₁ à CD₃.

3) Etude du phénol en tant que facteur de croissance :

Le tableau XVI nous montre les faits suivants :

- Les bactéries isolées au cours de la phase C peuvent pousser uniquement avec le phénol comme seule source de carbone.
- Pour obtenir une croissance importante nous devons utiliser des doses de 100 ppm de phénol, supérieures à celles utilisées dans la station pilote.

Milieu Souches	MS	MS phénol 20	MS phénol 100	GO	GO phénol 20	EB	EB phénol 20
CC ₁	0	+	++	+++	+++	+	++
CC ₂	0	0	++	+++	+++	+	++
CC ₃	0	0	++	+++	+++	+	++
CC ₄	0	0	++	+++	+++	++	++
CC ₅	0	0	++	+++	+++	+	++
CD ₁	0	0	++	+++	+++	+	+
CD ₂	0	0	++	+++	+++	+	+
CD ₃	0	0	++	+++	+++	+	+

TABLEAU XVI - Utilisation du phénol comme seule source de carbone par les bactéries isolées lors de la phase A.

Conclusion :

- Les dosages physico-chimiques effectués pendant les deux phases B et C de cette première période ont montré le bon fonctionnement de la station pilote. Un simple traitement biologique par des boues activées peut donc dégrader des doses importantes de phénol, quand ce polluant est seul.
- L'étude bactériologique a apporté les résultats suivants :
 . les germes responsables de la dégradation du polluant, se

trouvent essentiellement dans le floc. En conséquence, il sera donc nécessaire d'augmenter la surface de contact polluant-floc pour obtenir une meilleure épuration;

- . les bactéries isolées sur gélose nutritive sont différentes de celles isolées sur milieu à l'extrait de boue, mais elles peuvent toutes utiliser le phénol comme seule source de carbone; elles participent donc toutes à la biodégradation;

- . les bactéries isolées sur milieu minimum à l'extrait de boue sont très lentes à pousser et difficile à identifier; ce milieu, n'apportant aucun intérêt dans l'isolement des souches phénol-dépendantes, nous l'avons abandonné, pour la suite de l'expérimentation;

- . les prélèvements effectués à trois mois d'intervalle ont montré qu'il existait une évolution de la biocénose bactérienne;

- . il existe toujours une espèce dominante dans la population bactérienne. Dans notre cas particulier cette espèce était un bacille Gram négatif, oxydase positif, de ciliature polaire, aérobie strict appartenant à la famille des Pseudomonadaceae.

II - DEUXIEME PERIODE : Etude de la dégradation d'un effluent mixte phénol + DMSO

1) - Résultats physico-chimiques

Les dosages effectués pendant la phase E de cette seconde période ont donné les résultats indiqués dans le tableau XVII et la figure 9.

Pendant une période de 11 jours on observe la dégradation d'un effluent composé de phénol et de DMSO. On remarque :

- . l'acidification du pH qui passe de 8,5 en moyenne à l'entrée de la station à 6,5 en moyenne à la sortie de la station.

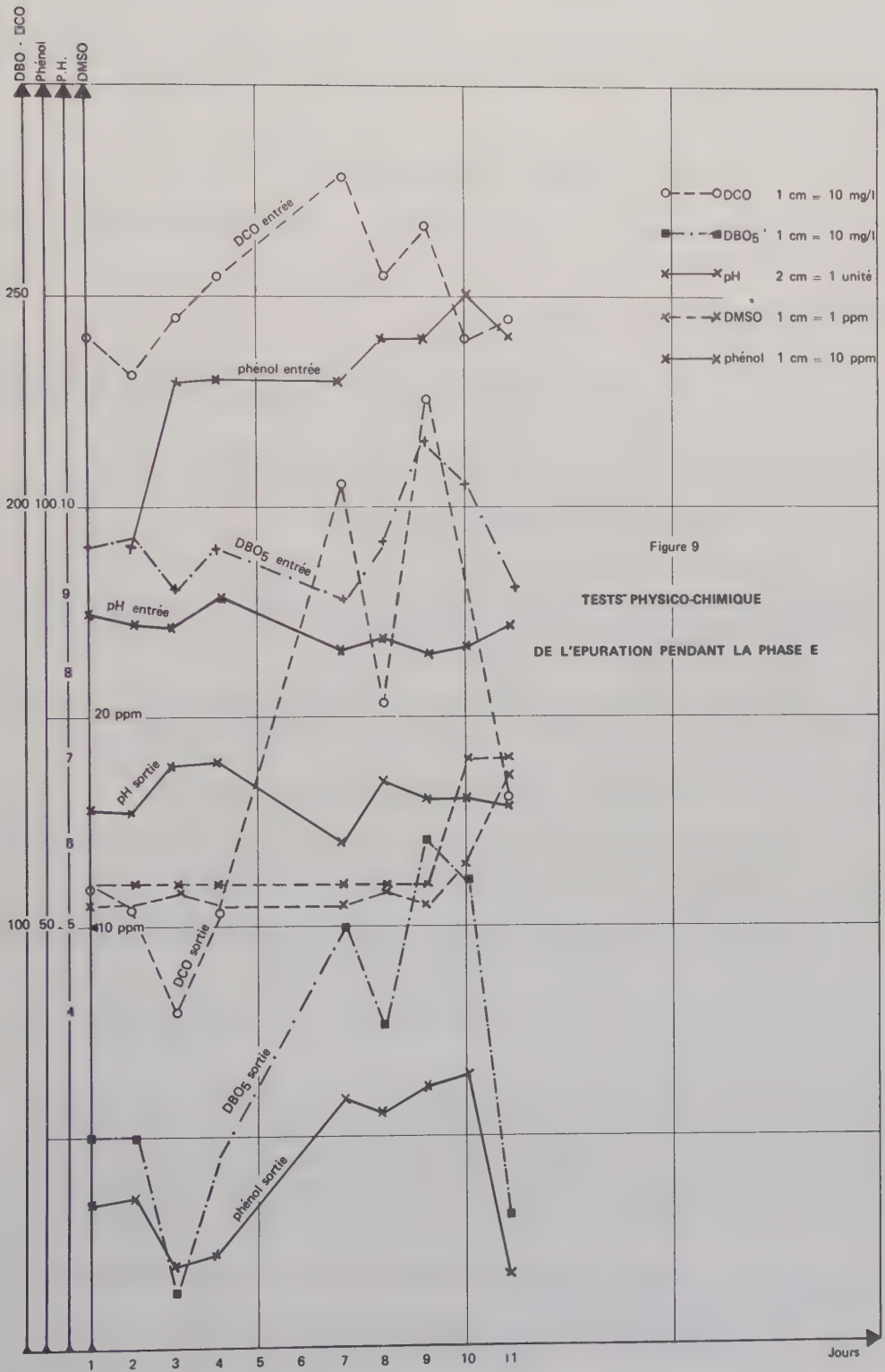
- . les dosages de DBO_5 , DCO et phénols montrent une légère diminution de leurs quantités à la sortie de la station.

- . au contraire le DMSO reste soit identique soit très sensiblement inférieur à la sortie qu'à l'entrée.

- . en augmentant dans les deux derniers jours la quantité de DMSO on observe une baisse plus sensible des phénols à la sortie de la station d'où une baisse des DBO et DCO.

Jours	pH	DBO (en mg/l)	DCO (en mg/l)	Phénols (en mg/l)	* DMSO (en mg/l)
1°	8,7 6,4	190 50	240 110	92 33	11 10,5
2°	8,6 6,4	192 50	232 104	90 35	11 10,5
3°	8,6 6,9	180 12	246 80	130 16	11 11
4°	8,8 6,95	190 44	254 103	130 21	11 10,5
7°	8,3 6	168 101	278 206	130 58	11 10,5
8°	8,4 6,8	192 76	254 153	140 56	11 11
9°	8,20 6,5	216 120	265 226	140 61	11 10,5
10°	8,3 6,5	205 110	240 180	150 65	14 11,5
11°	8,6 6,40	180 30	244 80	130 16	14 13,5

TABLEAU XVII - Tests de l'épuration de la station pendant la phase E.



Sur la figure 9 nous observons une concordance entre DBO₅ et DCO à l'entrée et à la sortie de la station, due aux différentes quantités de phénol à l'entrée.

L'addition du DMSO entraîne donc une baisse de l'épuration du phénol.

2) - Résultats bactériologiques

Les prélèvements bactériologiques ont été effectués à la fin de la phase E.

1°) Numération des germes totaux

La numération des germes totaux dans le floculum a dénombré 3.10⁴ bactéries/ml sur gélose nutritive, après 24 heures à 28°C.

2°) Etude physico-chimique des bactéries isolées

a) Isolement sur gélose nutritive

Sur gélose nutritive, nous avons isolé quatre types de colonies, mais aussi un champignon de la famille des MONILIALES (*Sporotrichum*) représentant le quart de la population bactérienne.

Ces quatre types de bactéries ont été séparés à l'aide de l'étude de leurs caractères classiques (tableau XVIII).

b) Identification par la technique des plaques

L'utilisation des différents substrats par les bactéries de la série E ont été représentés dans le tableau XIX.

L'adjonction du DMSO comme polluant supplémentaire entraîne une sélection dans la biocénose bactérienne :

- . les germes isolés sont moins nombreux par leur quantité et par leur diversité.

- . on note également une diminution du métabolisme des souches isolées, ainsi les souches isolées ne possèdent plus de cytochrome oxydase, la plupart des caractères biochimiques sont négatifs; on note également une nette diminution dans l'utilisation des substrats azotés et glucidiques du tableau XIX.

- . le D.M.S.O. semble être toxique à la cellule bactérienne et diminuer ainsi son activité.

Souches	EE ₁	EE ₂	EE ₃	EE ₄
Morphologie	bacille	coccobacille	bacille	bacille
Gram	-	-	-	-
Ciliature	+	+	+	+
Oxydase	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+
V F	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict	aérobie strict
HAJNA (glucose lactose H ₂ S gaz)	- - - -	+ + - -	- - - -	- + - -
β galactosidase	-	+	+	+
L D C	+	-	+	-
Gélose mobilité	(-)	(-)	(-)	(-)
Mannitol	-	+	-	-
MEVAG (oxydatif Glucose (fermentatif)	- -	+ -	- -	- -
Nitrate réductase	-	-	-	-
Uréase	+	-	-	-
Indol	-	-	-	-
Citrate Simmons	-	-	-	-
Pourcentage	75%	12%	7%	6%

TABLEAU XVIII - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase E sur gélose nutritive.

Substrats	Souches	EE ₁	EE ₂	EE ₃	EE ₄	AA Lo1314
Adonitol					+	+
Amidon						
D(-)Arabinose					+	+
D(+)Cellobiose		+	+	+	+	+
Dextrine		+	+	+	+	+
Dulcitol			+			
Meso Erythritol						
Esculine						
D(-)Fructose		+	+	+	+	+
D(+)Glucose		+	+	+	+	+
Glycogène		+	+			
Meso Inositol					+	+
Inuline		+			+	
D(+)Lactose			+		+	+
D(-)Mannitol		+	+	+		+
D Mannose			+	+	+	+
Raffinose					+	+
L(+)Rhamnose		+	+	+	+	+
D(+)Saccharose		+	+	+	+	+
Salicine		+	+	+		+
D(-)Sorbitol						+
L(-)Sorbose						
L(-)Xylose						
L(+) α Alanine		+	+			+
β Alanine				+		
Allantoïne						
L(+)Arginine		+	+	+		+
L(-)Asparagine		+	+	+		+
Betaïne					+	
Creatine						
L(+)Cysteïne						+
L(-)Cystine						
Glycocolle					+	
L(-)Histidine			+	+		+
L(+)Isoleucine		+				
DL Isoleucine		+				
L(-)Leucine		+			+	
L(+)Lysine				+		
L(-)Methionine						
L(+)Ornithine						
L(-)Phenylalanine		+	+			+
L(-)Proline		+			+	+
L(-)Serine			+			+
L(-)Theonine						
DL Theonine						
L Tryptophane						
Urée						
L(+)Valine						
DL Valine						

TABLEAU XIX - Utilisation des substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive EE₁ à EE₄ et AA Lo 1314.

3°) Etude du phénol et du DMSO en tant que facteur de croissance

L'utilisation du phénol et du DMSO comme seule source de carbone par les bactéries de la phase E indiquée dans le tableau XX montre que :

- . ces bactéries peuvent utiliser le phénol comme seule source de carbone, mais lorsqu'on augmente les doses de DMSO on observe une diminution de la croissance bactérienne,

- . le DMSO s'avère toxique pour la cellule bactérienne.

Tubes	T	1	2	3	4	5	6	T	1	2	3	4	5	6
DMSO (en mg/l)	0	10	20	30	50	100	200	0	10	20	30	50	100	200
Phénol (en mg/l)	0	0	0	0	0	0	0	100	100	100	100	100	100	100
EE ₁	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++	++	++	+
EE ₂	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++	++	+	+
EE ₃	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++	++	+	0
EE ₄	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++	++	+	0
AA Lo 1314	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	++	+

TABLEAU XX - Utilisation du phénol et du DMSO par les bactéries de la phase E.

3) - Conclusion

Quand on ajoute du DMSO à l'effluent, le rendement d'épuration du phénol diminue. Le DMSO lui-même n'est pas dégradé.

Sur le plan bactériologique, on obtient une diminution du nombre des germes totaux, due au pouvoir bactéricide du DMSO, démontré dans le tableau XX.

Les souches isolées sont toujours des bacilles Gram négatif, aérobies stricts, très souvent mobiles. On note une évolution de la biocénose bactérienne par rapport à la première période puisque les germes isolés présentent un métabolisme diminué, avec toujours la présence d'une espèce dominante.

Les souches isolées peuvent utiliser le phénol comme seule source de carbone, mais lorsqu'on ajoute des concentrations de plus en plus forte de DMSO on assiste à une inhibition de la croissance bactérienne.

III - TROISIEME PERIODE : Essais d'amélioration du rendement d'épuration en ensemençant une souche d'Aerobacter aerogenes

1) Résultats physico-chimiques

Les dosages reflétant l'épuration pendant la phase F sont indiqués dans le tableau XXI et la figure 10.

2) Résultats bactériologiques

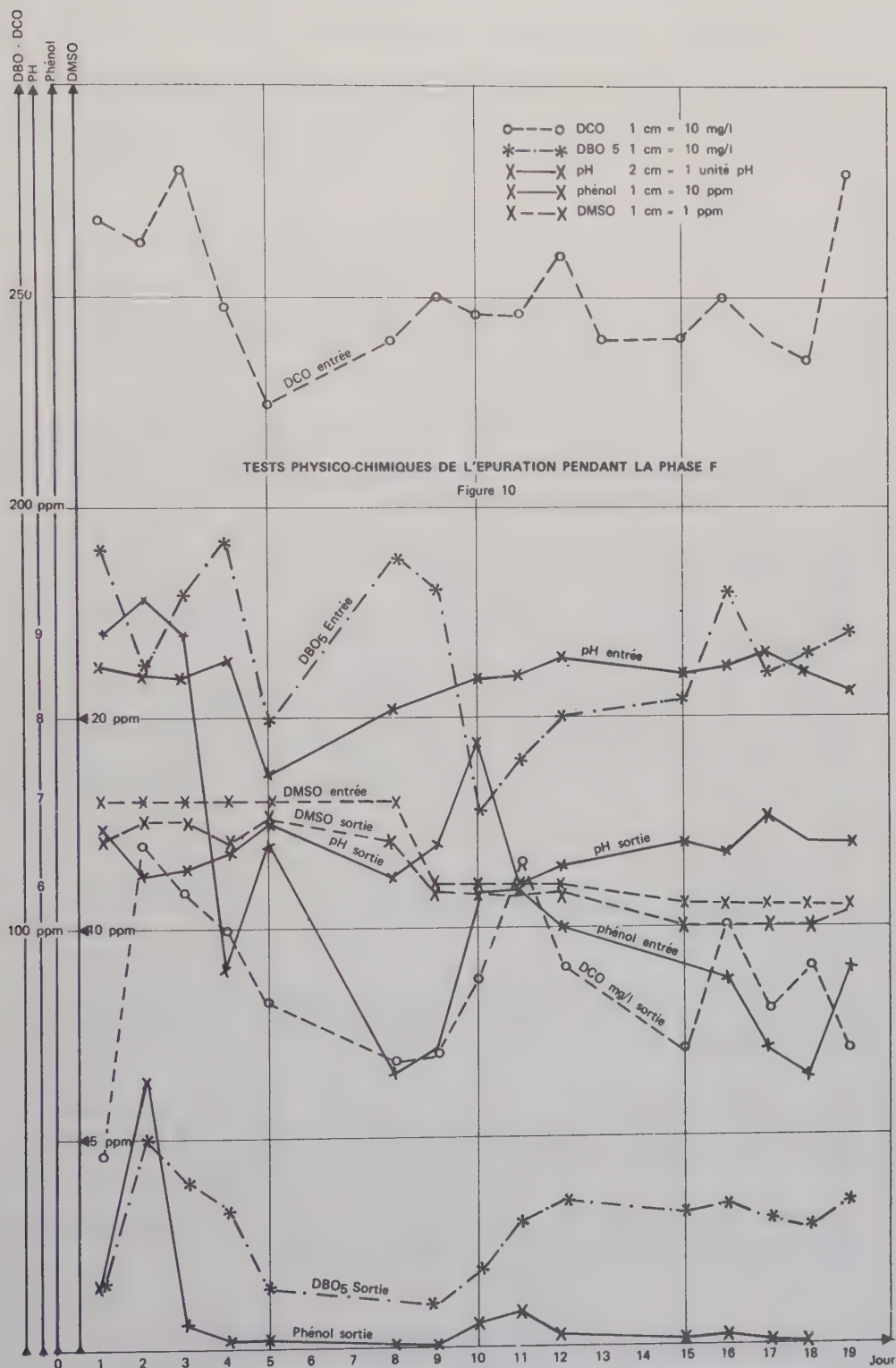
a) Numération des germes

- α) La suspension d'Aerobacter aerogenesensemencée au début de la phase F contient 5.10^8 bactéries/ml.
- β) La numération des germes totaux effectuée lors du 4ème prélèvement, à la fin de la phase F, montre une concentration de $2,2.10^7$ bactéries/ml.

Ces deux numérations ont été faites sur gélose nutritive après 24 heures d'étuve à + 30°C.

Jours		pH	DBO (en mg/l)	DCO (en mg/l)	Phéno1 (en mg/l)	DMSO (en mg/l)
1°	E	8,10	190	268	170	13
	S	6,2	14	46	14	12
2°	E	8	162	264	178	13
	S	5,6	51	120	58	12,5
3°	E	8	180	280	160	13
	S	5,7	40	109	5	12,5
4°	E	8,2	192	248	89	13
	S	5,9	33	100	2	12
5°	E	6,8	148	234	122	13
	S	6,2	14	82	1	12,5
8°	E	7,6	188	240	64	13
	S	5,6	11	68	0,034	12
9°	E	7,8	180	250	70	11
	S	6	10	70	0,10	11
10°	E	7,9	127	246	108	11
	S	7,3	18	88	6,4	10,5
11°	E	8	140	246	108	11
	S	5,5	30	113	8	11
12°	E	8,2	150	260	100	11
	S	5,7	35	90	3	11
15°	E	8	154	240	90	10,5
	S	6	32	70	1	10
16°	E	8,10	180	250	88	10,5
	S	5,9	33	100	2	10,5
17°	E	8,3	160	140	70	10,5
	S	6,3	30	80	0,040	10
18°	E	8	165	235	65	10,5
	S	6	28	90	0,015	10
19°	E	7,8	170	280	90	10,5
	S	6	34	70	0,05	10,5

TABLEAU XXI - Tests de l'épuration de la station pendant la phase F.



b) Etude physico-chimique des bactéries isolées

α) Isolément à partir de la gélose nutritive

Dans le quatrième prélèvement nous ne retrouvons plus que trois types de bactéries, la souche d'*Aerobacter aerogenes* ensemencée, dont les caractères sont indiqués dans le tableau XXII' et les souches EE₁ et EE₂.

β) Identification par la technique des plaques

L'utilisation des différents substrats par les bactéries de la série F, EE₁, EE₂ et *Aerobacter aerogenes* Lo 1314 ont été représentés dans le tableau XIX.

L'adjonction du DMSO comme polluant supplémentaire et l'ensemencement par *Aerobacter aerogenes* Lo 1314 entraîne une sélection dans la biocénose bactérienne.

- les germes isolés sont peu nombreux par leur quantité et par leur diversité,
- *Aerobacter aerogenes* représente l'espèce dominante, 90 % de la population,
- on note également dans le tableau XIX une diminution du métabolisme des souches isolées, absence de cytochrome oxydase, la plupart des caractères biochimiques sont négatifs avec diminution dans l'utilisation des substrats azotés et glucidiques.

c) Etude du phénol et du DMSO en tant que facteur de croissance

L'utilisation du phénol et du DMSO comme seule source de carbone par les bactéries de la phase F, indiquée dans le tableau XX montre que :

- ces bactéries peuvent utiliser le phénol comme seule source de carbone, mais lorsqu'on augmente les doses de DMSO on observe une diminution de la croissance bactérienne.
- le DMSO s'avère bactériostatique pour la cellule bactérienne, même pour la souches AA - Lo 1314.

Souches	AA Lo 1314	EE ₁	EE ₂
Morphologie	bacille	bacille	coccobacille
Gram	-	-	-
Ciliature	+	+	+
Oxydase	-	-	-
Catalase	+	+	+
V F	aéro anaérobie	aérobie strict	aérobie strict
HAJNA (glucose)	+	-	+
(lactose)	+	-	+
(H ₂ S)	-	-	-
(gaz)	+	-	-
β galactosidase	+	-	+
L D C	+	+	-
Gélose mobilité	+	(-)	(-)
Mannitol	+	-	+
MEVAG (oxydatif)	+	-	+
Glucose (fermentatif)	+	-	-
Nitrate réductase	+	-	-
Uréase	-	+	-
Indol	-	-	-
Citrate Simmons	+	-	-
Gélatine	-	-	-
Pourcentage	90%	8%	2%

TABEAU XXII - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase F sur gélose nutritive.

3) Conclusion

- Une meilleure épuration du phénol est obtenue en ensemençant une souche phénol-dépendant; par contre le rendement d'épuration du D.M.S.O. n'est pas amélioré (tableau XXIII).
- Du point de vue bactériologique, *Aerobacter aerogenes* Lo 1314 devient l'espèce dominante de la biocénose, et on ne retrouve que deux autres souches en très petite quantité dans le dernier prélèvement.
- Le tableau XX nous montre que la souche *Aerobacter aerogenes* utilise le phénol comme seule source de carbone; par contre, à doses élevées, le DMSO est bactériostatique pour cette même souche.
- L'étude des caractères biochimiques montre que la majorité des souches sont des bacilles Gram négatif, aérobie strict, oxydase positif, appartenant à l'ordre des Pseudomonales, famille des Pseudomonadaceae, genre *Pseudomonas*.
- Enfin, on note également quelques *Achromobacteraceae* du genre *Flavobacterium*. Les bactéries aéro-anaérobie appartenant aux *Enterobacteries* sont rares.

Critères d'épuration phase	Phénol	DCO	DBO ₅	DMSO	Observations
1 ^o Période phase B	99,9 %	-	-	-	Epuration pratiquement complète du phénol
1 ^o Période phase C	99,9 %	71 %	90 %	-	Epuration complète et régulière du phénol
2 ^o Période phase E	78 %	48 %	63 %	5 %	Ralentissement de l'épuration du phénol, pas d'épuration du DMSO
3 ^o Période phase F	96 %	64 %	84 %	4 %	Le DMSO n'est pas dégradé, mais l'épuration du phénol s'améliore

TABLEAU XXIII - Etude des rendements d'épuration en fonction du polluant.

DISCUSSION

L'étude que nous avons entreprise dans le cadre du traitement des eaux par les boues activées avait plusieurs buts. Tout d'abord, nous voulions faire une mise au point bibliographique de cette question, notamment sur les pilotes actuellement utilisés en laboratoire. Il était en effet dans notre intention de construire et d'améliorer un de ces dispositifs afin d'étudier de nombreux paramètres. Ensuite, nous avons voulu considérer le problème bactériologique des boues activées en fonction, d'une part, de l'effluent et d'autre part, de certaines souches bactériennes. Ces dernières, sélectionnées, étaient capables de dégrader spécifiquement un seul polluant comme le phénol ou un polluant mixte composé de phénol et de diméthylsulfoxyde ou DMSO.

En ce qui concerne l'expérimentation d'un pilote, SAWYER (143) a montré que le procédé mixte des boues activées comportait une demande en azote et en phosphore relativement importante. En effet, d'après cet auteur le rapport idéal entre les différentes valeurs de ces substances, exprimées dans une même unité, devait être compris entre $DBO_5 : N : P = 150 : 5 : 1$ et $DBO : N : P = 90 : 5 : 1$. En utilisant un effluent synthétique, nous sommes arrivés au même résultat avec notre dispositif en ajoutant aux boues extraites du décanteur de l'azote, sous forme d'ammoniaque, et du phosphore sous forme de phosphate dipotassique. ERICKSON et KNOPP (51) ont montré que l'utilisation des boues activées à des températures voisines de $34^{\circ}C$ donnait des rendements excellents. Cependant, nous avons fixé la température de notre pilote à $28^{\circ}C$, pour étudier les bactéries présentes dans les boues, car il nous semblait plus logique de nous rapprocher au maximum des conditions réelles d'utilisation. Il faut également signaler que si l'activité enzymatique des boues activées est proportionnelle à la température jusqu'à $38^{\circ}C$, elle est déjà importante à la température choisie. Enfin, pour la construction du pilote, nous avons utilisé les équations établies par WURHMANN (173), équations qui permettent de recycler l'excès de boues dans le système.

$$\frac{Z_t}{Z_1} = \exp (-0,26 t)$$

$$\frac{Z_t}{Z_1} = \frac{\text{Poids de matières en suspension, volatiles, âgées de } t \text{ jours}}{\text{Poids de matières en suspension âgées de : 1 jour}}$$

L'âge des boues est lié à la quantité de floc mis en circulation dans le système, et à celle formée dans un temps donné. Cet âge détermine l'activité des boues en circulation ou partiellement éliminées et leur niveau d'énergie.

La vitesse de purification d'une eau usée est fonction classiquement à la fois de la concentration en substances à éliminer et de l'affinité des microorganismes pour ces substances. C'est la raison pour laquelle nous avons mis une agitation en continu dans le bassin d'aération, afin de répartir les substances nutritives. La vitesse de purification est, par conséquent, constante dans l'ensemble du volume aéré. Pour accélérer le transfert entre le substrat, les substances nutritives et le floc, nous avons utilisé, associée à l'agitation mécanique, une émission de fines bulles d'air, comme le conseillait KALINSKE (83); ce mécanisme a l'avantage d'augmenter en même temps l'aération. Avec notre dispositif, le volume de l'aérateur peut varier de 3 à 10 litres, celui du décanteur de 2 à 4 litres. Le débit de l'eau peut être modifié entre 0 et 3 litres/heure, celui de l'air entre 0 et 50 litres/heure. Enfin, le débit de recyclage des boues, paramètre très important car il limite le temps de séjour des bactéries dans le décanteur, peut varier de 0 à 1 litre/heure.

Avec ce dispositif, l'air est diffusé dans l'aérateur au moyen d'une plaque de téflon poreux qui présente le double avantage de posséder une faible porosité et de ne pas s'oxyder. Le diffuseur est disposé sous l'agitateur, afin de réduire encore le diamètre des bulles d'air, tout en augmentant leur nombre, donc, la surface de contact. L'agitateur favorise également le transfert de matières en augmentant la surface de contact floc-eau ce qui donne une meilleure efficacité au procédé puisque la majorité des bactéries se trouve dans le floc. Nous avons choisi un débit d'alimentation de 1 l/h. Ce débit nous donne en effet une autonomie de 8 jours de fonctionnement, compte tenu du volume du réservoir de stockage qui est de 200 litres. Le procédé des boues activées est régi par des phénomènes dont la cinétique est lente. Il est donc nécessaire d'avoir une alimentation homogène pendant d'assez longues périodes. La charge de pollution du débit faible (effluent contenant 10 ppm de phénol) a été ajustée à environ 100 ppm pour que les phénomènes soient

suivis avec plus de précision. Dans un deuxième temps, le DMSO a été réjouté à une concentration d'environ 10 ppm, concentration faible, car c'est plus la dégradation de cette molécule, que ses effets bactériostatiques qui nous intéressent. En ce qui concerne le temps d'aération, nous avons choisi 8 heures, temps qui, selon la littérature, n'apporte pas un trop grand excès de boues. Le temps de décantation optimale est généralement de 2 heures, le volume utile de décantation a donc été fixé à 2 litres. Pour l'aération, la quantité d'oxygène transférée a été évaluée à 10 % compte tenu de notre système de diffusion et de la puissance mécanique mise en jeu par l'intermédiaire de l'agitateur qui tourne à 1.000 t/mn. Ce pourcentage d'oxygène transféré, le débit d'eau d'alimentation et la charge de pollution 10 puis 100 ppm de phénol fixent le débit d'air soit 45 litres par heure.

En résumé, les conditions expérimentales de l'appareil pilote sont les suivantes :

Débit de l'eau (l/h)	Débit de l'air (l/h)	Vitesse de l'agitation (t/mn)	Débit de recyclage (l/h)	Température (degrés C°)	Volume d'aération (en l)	Volume de décantation (en l)
1	45	1000	1	28	8	2

Après la mise au point de notre dispositif nous sommes passés à l'application pratique. Nous voulions étudier les phénomènes biologiques en présence de phénol, ou de phénol additionné de DMSO dans les conditions que nous venons de définir.

Du point de vue rendement d'épuration, nous remarquons que dans le cas où le phénol est la seule source de pollution, l'épuration est presque totale. En revanche, si l'eau contient différents polluants, et c'est le cas général, l'épuration est diminuée voir supprimée. Ainsi, avec le DMSO, l'essai d'épuration a été un échec.

Quand l'effluent ne contient qu'un seul polluant à molécule carbonée simple, comme le phénol, il est relativement aisé de sélectionner des bactéries assurant la biodégradation de ce polluant, en l'utilisant comme seule source de carbone. Nous avons ainsi montré que le phénol était un facteur limitant de croissance pour ces bactéries, c'est à dire qu'elles pouvaient cultiver uniquement avec le phénol comme seule source de carbone.

D'emblée, nous obtenons donc un rendement maximum d'épuration du phénol. Dans le cas d'un polluant unique, nous rejoignons ainsi les auteurs du "Manual on disposal of refinery wastes" * qui ont montré que la culture de souches bactériennes particulières n'augmentait pas le rendement de l'épuration, par rapport aux bactéries qui poussent habituellement à partir de contaminations naturelles.

Par contre, lorsque l'effluent est composé de plusieurs polluants le rendement d'épuration baisse. Nous remarquons alors que l'un des polluants peut être bactéricide ou bactériostatique pour les bactéries qui dégradent d'autres polluants. C'est en effet le cas du diméthylsulfoxyde (DMSO), toxique pour les bactéries biodégradant le phénol (JACOB (79)). Sur le plan industriel, les molécules soufrées comme le DMSO sont toujours difficilement biodégradables, même dans un effluent ne contenant que du DMSO.

Cependant, plusieurs remarques peuvent être tirées de nos expériences. A la fin de la phase E, par exemple, après addition de DMSO (tableau XXIII), le rendement de l'épuration diminue notablement. On sait qu'il existe des vitesses de réactions différentes pour les divers composants du substrat dues à l'affinité préférentielle des bactéries pour certaines matières organiques. La DCO de l'eau est due en effet aux matières organiques et également à l'ammoniaque.

La dégradation des matières organiques doit donc se faire, de préférence, à la nitrification. Il est également intéressant de remarquer que les bactéries que nous avons identifiées ont une fonction nitrate réductase qui va jusqu'au stade NO_2^- pour la majorité, et même N_2 pour quelques autres d'entre elles. Cette particularité des boues activées peut expliquer pourquoi les phénomènes de décantation sont souvent gênés par la remontée de bulles d'azote entraînant avec elles le floc.

D'ailleurs, tout au long de la phase D de la deuxième période, les phénomènes de décantation ont été contrariés par le "bulking" que l'on pourrait traduire par floconnement. Cependant, les observations microscopiques des boues aussi bien que les identifications des bactéries ne permettent pas de formuler d'hypothèse logique. Des études au microscope électronique seraient souhaitables pour connaître les différentes structures du floc, et rechercher une relation éventuelle avec l'aptitude à décanter des boues, par exemple l'indice de décantabilité (Sludge volume index) qui exprime la valeur du rapport :

* Biological treatment - Copyright 1969, American Petroleum Institute.

Volume de boues décantées après 30 mn.

Masse de boues contenues dans un volume étudié.

Ce phénomène de bulking n'a pas duré. Quand la boue activée a étéensemencée à l'aide d'*Aerobacter aerogenes*, la décantation est redevenue normale. Simultanément d'ailleurs, le rendement de l'épuration en phénol s'est nettement amélioré. Cette remarque est intéressante, car elle permet d'envisager des ensemencements spécifiques pour accélérer le processus d'adaptation des bactéries aux différents polluants rencontrés dans l'industrie.

L'aptitude à l'épuration d'une matière organique par une souche particulière est facile à démontrer puisqu'une simple étude en tube permet de la déceler.

Ainsi, après plusieurs essais, et en particulier avec la souche *Aerobacter aerogenes* Lo 1314, préconisée par RAMMLER, GRADO et FOWLER (135), le DMSO n'a pas pu être utilisé comme facteur limitant. Il ne peut donc pas être dégradé biologiquement.

Si, dans la deuxième période de notre expérimentation, l'addition d'une culture d'*Aerobacter aerogenes* de 24 heures, n'améliore pas le rendement d'épuration du DMSO, en revanche, celui du phénol redevient satisfaisant. Nous retrouvons donc les résultats de KUNICKI-GOLFINGER et coll. (94) qui avaient montré que l'on pouvait obtenir, après deux jours d'ensemencement, une boue synthétique, dont le rendement d'épuration était maximum en utilisant des souches sélectionnées. MIMURA (109) améliore aussi le traitement d'eaux usées provenant d'industries pétrochimiques en ensemencant des boues activées avec une souche de "*Corynebacterium nitrophilus*". Dans le cas d'une application industrielle, il faudrait donc connaître les différents composants de l'effluent en vue de sélectionner des souches assurant la biodégradation.

Il semble difficile, en pratique, d'arriver à maîtriser l'ensemble biologique symbiotique constitué par la boue activée. C'est la raison pour laquelle les utilisateurs prennent habituellement, après des essais empiriques, une boue qui présente un bon rendement d'épuration au départ.

En résumé, quand le phénol est la seule source de pollution, l'épuration est presque totale, en revanche, si l'eau contient différents polluants, en particulier, phénol et DMSO, l'épuration ne se produit pas.

Sur le plan bactériologique, BUTTERFIELDS en 1935 (28), HOWEVER et coll. en 1953 (18), puis ALLEN (3), VAN GILLS (64) et enfin DIAS et BHAT en 1964 (40), ont montré que les bactéries présentes dans le floc sont hétérogènes, limitées à quelques genres. Cependant, ces mêmes auteurs, retrouvent toujours une espèce dominante.

Ainsi, NEGULESCU, VAICUM et GODEANU (117) qui travaillaient sur l'effluent d'une raffinerie et KUNICKI-GOLDFINGER, MAKOWSKI et WIESZTORT (94) qui avaient pour modèle un effluent synthétique à base de phénol, ont mis en évidence une majorité de PSEUDOMONADACEAE, d'ARTHROBACTER et de quelques ENTEROBACTERIES. D'après ces auteurs, les bacilles Gram positif étaient pratiquement inexistantes.

Enfin, NEGULESCU (116), puis VAICUM ont montré que la surface de contact jouait un rôle primordial dans le mécanisme d'action des boues activées.

D'après notre expérience, le nombre de souches isolées dans les boues activées, adaptées à un polluant donné est relativement faible. Ainsi, lors de chaque prélèvement, nous n'avons pas isolé plus de cinq types de colonies différentes. Nous retrouvons ici les théories énoncées par les différents auteurs : BUTTERFIELD en 1935 (28), HOWEVER et coll. en 1953 (18), puis ALLEN (4), VAN GILLS (64) et enfin DIAS et BHAT (39).

Nous avons montré d'autre part, à l'aide de numération effectuées sur gélose nutritive, que les bactéries étaient situées en plus grande quantité dans le floc. En conséquence, il est nécessaire d'agiter fortement le milieu pour augmenter la surface de contact floc-polluant.

Sur le plan qualitatif, les conditions écologiques et en particulier l'oxygénation forte du milieu, entraînent une sélection naturelle des bactéries. En effet, la majorité des souches isolées sont des aérobies strictes et, en particulier, des bactéries du genre PSEUDOMONAS. Nous retrouvons ici les mêmes germes que NEGULESCU, VAICUM et GODEANU, d'une part et que KUNICKI-GOLDFINGER, MAKOWSKI et WIESZTORT d'autre part.

Il nous a cependant été très difficile d'identifier ces bactéries jusqu'à l'espèce. En revanche, l'utilisation de la méthode de la consommation des substrats nous a permis de suivre l'évolution de la biocénose au cours de l'expérimentation.

Enfin, contrairement à la théorie de BELJAEVA (13), pour lequel chaque type de réservoir possède une biocénose stable, les résultats que nous avons obtenus, nous rapprochent de la théorie de GAUDY (60). Ce dernier considère qu'une bonne épuration demande une évolution constante de la population et un changement de l'espèce bactérienne dominante.

C O N C L U S I O N

La construction d'un prototype d'étude des boues activées a permis le contrôle de nombreux paramètres, en vue d'augmenter le rendement d'épuration d'un effluent.

Les bactéries isolées de ces boues activées ont été identifiées. Elles appartiennent aux familles des PSEUDOMONADACEAE, ARTHROBACTER et ENTEROBACTERIACEAE.

L'étude, en fonction du temps, a montré une modification des espèces dominantes. Cependant, quand le nombre de ces espèces diminue, le nombre total des caractères enzymatiques ne suit pas la même progression. On peut donc penser que les bactéries se sélectionnent et évoluent en acquérant un plus grand nombre d'enzymes. La biocénose n'est donc pas stable.

Les études de croissance des bactéries en tubes sont significatives. Elles peuvent aider à comprendre leur rôle dans le processus d'épuration par les boues activées. Réciproquement, cette étude peut permettre de choisir une meilleure espèce dans le cas d'un mauvais rendement d'épuration, ou d'un polluant difficilement biodégradable.

L'essai de dégradation du DMSO, après addition de la souche *Aerobacter aerogenes* Lo 1314 réputée DMSO-dégradable, ne s'est pas révélé positif.

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
des Sciences Pharmaceutiques

M. CARRAZ

Pour le Directeur,
Le Directeur adjoint,

L. Odet
L. ODDOUX

Vu, le Président de la thèse

R. MALLEIN

R. Mallein

Vu et permis d'imprimer

Lyon - le 10 mai 1972

Le Président de l'Unité Claude Bernard

J. BOIDIN

J. Boidin

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ADAMSE A.D. - Response of a dairy waste activated sludge to experimental condition affecting pH and dissolved oxygen concentration.
- Water Research, 1968, 2, (703-714).
- 2 - AGAMI C. - Bull. Chim. Soc., 1965, (1021).
- 3 - ALLEN M.A. - The bacteriology of activated sludge.
- J. Hyg., 1944, 43, (424-431).
- 4 - ALLEN M.A. - Work with an experimental activated sludge plant.
- Inst.Sewage Purific.,J.Proc., G.B., 1965, 5, (408-412).
- 5 - ANDERSON R.E. - Isolation and generic identification of the bacteria from activated sludge flocs, with studies of floc formation.
- Dissert. Abstr., USA, 1964, 25, n° 4, 2170 - Res thèse.
- 6 - ANDO H., KUMAGAI M., KARASHIMADA T. and IIDA H.
- Japan J. Microb., 1957, 1, (335).
- 7 - ANDREWS J.F. - A dynamic model of the anaerobic digestion process.
- Purdue Univ.,Engng Ext., USA, 1968, 23, (285-310).
- 8 - ASHMORE A.G., CATCHPOLE J.R., COOPER R.L. - The biological treatment of carbonization effluents investigations into treatment bt the activated sludge process.
- Water Research, 1967, 1, (605-624).
- 9 - ASHMORE A.G., CATCHPOLE J.R., COOPER R.L. - The biological treatment of carbonization effluents - Studies on the influence of liquor composition.
- Water Research, 1968, 2, (555-562).

- 10 - BALAKRISHNAN S., ECKENFELDER W.W. - Nitrogen relationships in biological treatment processes - I -Nitrification in the activated sludge process.
- Water Research, 1969, 3, (73-81).
- 11 - BALAKRISHNAN S., ECKENFELDER W.W. - Nitrogen relationships in biological treatment processes -III. Denitrification in the modified activated sludge process.
- Water Research, 1969, 3, (177-188).
- 12 - BARTSCH G., ZULKE H.J., JASCHHOF H., MACH F. - Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen der Belebtschlammflocken in Anlagen zur biologischen Reinigung industrieller Abwässer.
- Z.Allg. Mikrobiol., Dtsch, 1970, 10, (157-164).
- 13 - BELJAEVA M.A., GJUNTER L.I. - Caractéristiques des biocénoses des boues activées dans les réservoirs à surcharge et les réservoirs à période d'aération prolongée.
- Nauch.Dokl.vyssh.Shk.,biol.N auki S.S.S.R.,1969,12,(98-103).
- 14 - BENEDEK P., FARKAS P. - Über die Betriebsparameter des Belebtschlammverfahrens.
- Gas-u. Wasserfach, Dtsch., 1968, 109, (1239-1245).
- 15 - BENEDEK P., HORVATH I. - A practical approach to activated sludge kinetics.
- Water Research, 1967, 1, (663-682).
- 16 - BERNARD J. - Les eaux résiduaires de raffineries de pétrole. Caractéristiques et modalités de traitement.
- Techniques du Pétrole, Janv-Fév. 1965.
- 17 - BERNARD J., LOUBOUTIN R. - Modulation of the oxygen supply in an activated sludge process.
- 5 th International Conférence on water pollution research. Section II, 1970.
- 18 - Biologicals actions of DMSO - Annals of the New-York Academy of Sciences, 1966, 141.
- 19 - BOHNKE B. - Extendable sewage plant in package type construction for rapidly expanding communities up to 25,000 inhabitants.
- 5 th Intern. Conf. on Water Pollution Research, Section II, 1970.
- 20 - BOUTHILET R.J., DEAN R.B. - Hydrolisis of activated sludge.
- 5 th Intern. Conf. on Water Pollution Research, Section III, 1970.

- 21 - BREBION G., CABRIDENC R., ROGEON M.
- La Tribune du Cebedeau, 1966, 19.
- 22 - BREBION G., CABRIDENC R., LEYGUE.
- Terre et Eaux, 1967, n°51.
- 23 - BRIDIE A.L.A.M. - Determination of the DBO with continous recording of oxygen uptake.
- Water Research, 1969, 3.
- 24 - BROUZES P. - Automated activated sludge plants with respiratory metabolism control.
- Fourth Int.Conf.on water Pollution Res.,Section II,1968.
- 25 - BUCKSTEEG W. - Determination of sludge activity. A possibility of controlling activated sludge plants.
- Third Int.Conf.on water Pollution Res.,Section II,1966.
- 26 - BUNCH R.L. - A biodegradability test for organic.
- J.Water Pollution control federation, 1967, 39, (181-187).
- 27 - BUSCH A.W. - Laboratory unit for bench - scales studies.
- Water Sewage Works, 1959.
- 28 - BUTTERFIELD C.T. - Studies of sewage purification . II- A zooglea-forming bacterium isolated from activated sludge.
- Public Health Rept., (U.S.), 1935, 50, (671-684).
- 29 - CADWALLADER T.C., ARCHIC J.M.C. - A multivariate analysis of reparation data.
- Water Research, 1969, 3, (731-743).
- 30 - CANALE R.P. - Predator-pey relationship in a model for the activated process.
- Biotech. and Bioeng. USA, 1969, 11, (887-907).
- 31 - Centre Belge d'Etude et de Documentation des Eaux.
- Livre de l'eau, Ed. Cebedeau, Liège, 1965, 2^eédition.
- 32 - CHAUDHURI M., ENGELBRECHT R.S. - Virus removal in waste water renovation by chemical coagulation and flocculation.
- 5th Intern.Conf.on Water Pollution Res.,1970, n° 20.
- 33 - CHIA SHON SHIN V.T. (Jr.), ROY F. - Temperature effects on energy oxygen requirements in biological oxydation.
- J.Wat.Pollut.Control Feder. USA, 1969, 41, (461-474).
- 34 - COACKLEY P. - Some aspects of activated sludge.
- Process Biochem., 1969, 4.

- 35 - COOKE W.B., PIPES W.O. - The occurrence of fungi in activated sludge.
- Purdue Univ., Engeng Ext., USA, 1968, 23, (170-182).
- 36 - CURDS C.R., COCKBURN A. - Protozoa in biological sewage treatment processes. I- A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge.
- Water Research, 1970, 4, (225-236).
- 37 - CURDS C.R., COCKBURN A. - Protozoa in biological sewage treatment processes. II- Protozoa as indicators in the activated sludge process.
- Water Research, 1970, 4, (237-249).
- 38 - CURDS C.R., FEY G.J. - The effect of ciliated protozoa on the fate of Escherichia coli in the activated sludge process.
- Water Research, 1969, 3, (853-867).
- 39 - DIAS F.F., BHAT J.V. - Microbiol ecology of activated sludge. I- Dominant bacteria.
- Appl. Microbiol., 1964, 12, (412-417).
- 40 - DIAS F.F., BHAT J.V. - Microbiol ecology of activated sludge. II- Bacteriophages, B dellovibrio, coliforms and other organisms.
- Appl. Microbiol., 1965, 13, (257-261).
- 41 - DICKINSON - Redox measurement of treatability by the activated sludge process.
- Water Research, 1969, 3, (955-961).
- 42 - DIETRICH KEHR - Aerobic sludge stabilization in sewage treatment plants.
- Third Intern. Conf. on Water Pollution Res., 1966, Sect. II.
- 43 - DOHANYOS M., GRAU P., CHUDоба J. - Kinetic assessment of glucose removal and saccharide accumulation capacities in activated sludge.
- Fifth Intern. Conf. on Water Pollution Res., 1970.
- 44 - DORIER A. - Contribution à la connaissance de la biologie des eaux contaminées par des matières organiques.
- Prav. Labor. Hydrob. et Pise de Grenoble, 1937 (31-82).
- 45 - DOWNING A.L., KNOWLES G. - Population dynamics in biological treatment plants.
- Third Inter. Conf. on Water Pollution Res., 1966, Sect. II.

- 46 - EBERHARDT W.A., NESBITT J.B. - Chemical precipitation of phosphorus in a high-rate activated sludge system.
- J. Wat. Pollut.Control Feder, USA, 1968, 40, (1239-1267).
- 47 - ECKENFELDER W.W. - Industrial Water pollution control.
- 179-82 - Mc GRAW - Hill Book Co New-York.
- 48 - ECKHOFF D.W., JENKINS D. - Transient loading effects in the activated sludge process.
- Third Int.Conf.on Water Pollution Res., 1966, section II.
- 49 - EDEMINE F., LAMBERT G. - La cloche à boues : un appareil pour mesurer in situ la respiration des boues fluides.
- Tribune du Cebedeau, Belgique, 1969, 22, (65-67).
- 50 - Der EMDE W. (Von) - Die Geschichte des Belebungsverfahrens.
- Gas-u Wasserfach, Dtsch., 1964, 105, (755-760).
- 51 - ERICKSON A.H. and KNOPP P.V. - Biological treatment of thermally conditioned sludge liquors.
- 5th Int.Conf.on Water Pollution Res., 1970, section II.
- 52 - FAN L.T., CHEN G.K.C., ERICKSON L.E. and NAITO M. - Effect of axial dispersion on the optimal design of the activated sludge process.
- Water Research, 1970, 4, (271-284).
- 53 - FORSTER G.F. - The surface of activated sludge particles in relation to their settling characteristics.
- Water Research, 1968, 2, (767-776).
- 54 - FRUH E.G., MORGAN W.E., MOORE H.G., HUGGINS R.B. and SHAHAN M. - An enzymatic technique to detect surplus phosphorus uptake by activated sludge.
- 5th Int.Conf. Water Pollution Res., 1970, section II.
- 55 - FUKJOKA, SEILCHI, EICHIMIKAMI and HIDEO ONO - Microbial purification of some specific industrial wastes : V -The treatment of polluted water containing ABS by activated sludge.
- Rep. Ferment Res. Inst., 1967, 32, (91-99).
- 56 - CANCZARCZICK J. - Performances studies of the unbleached kraft pulp effluent treatment plant in ostroleka.
- Water Research, 1969, 3, (519).
- 57 - CANCZARCZYK J. - Variation in the activated sludge volume index.
- Water Research, 1970, 4, (69-77).

- 58 - CANCZARCZYK J. and BACHANEK S. - The influence of waste water concentration on the activated sludge process efficiency.
- 5th Int.Conf.Water Pollution Res., 1970, section II.
- 59 - GANN J.F., COLLIER R.E., LAWRENCE C.H. - Aerobic bacteriology of waste stabilizations ponds.
- J.Wat.Pollut.Control Feder., USA, 1968, 40, (185-191)
- 60 - GAUDY A.F. (Jr.), RAMANATHAN M., YANG P.Y. and DE GEARE T.V. - Studies on the operational stability of the extended aeration process.
- J.Water Pollut.Contr.Fed., 1970, 42, (165-179).
- 61 - GAUDY A.F. (Jr.), GOEL K.C. and FREEDMAN A.J. - Activated sludge process modification for nitrogen - deficient wastes.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollution Res., 1968, section II.
- 62 - GERHARDS E., GABIAN H. and RASPE G. - Annals of the New-York Acad. of Sciences, 1966, 15, (11).
- 63 - GILCREAS F.W. - Wastes Engineering - mai 1952.
- 64 - Van GILS H.W. - Bacteriology of activated sludge.
- Res.Inst.Public Health Eng., 1964, n° 32, (1-101).
- 65 - GODEANU S., CATANA C. - Essai de représentation graphique de l'évolution des biocénoses de la boue activée.
- Stud.Protect.Epurar.Apelor, (Roumain), 1968, 10, (225-246).
- 66 - GRAHAM P.W. - Kinetics aspects of the treatment of phenolic wastes.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollution Res., 1968, section II.
- 67 - GRYGOR'JEWA L.V., KORCHAK G.I., BEJ T.V. - Etude expérimentale de la survie de quelques bactéries et virus dans des boues résiduaires.
- Mikrobiol. Zh., URSS, 1969, 31, (659-664).
- 68 - HAMAGUCHI K. - J. Biochem. (Japan), 1964, (56-441).
- 69 - HART I.C. - Nomograms to calculate dissolved oxygen contents and exchange (mass-transfert) coefficients.
- Water Research, 1967, 1, (391-395).
- 70 - HENLELEKIAN H., ORFORD H.E. and MANGANELLI R. - Facteurs affecting the quantity of sludge production in the activated sludge process.
- Sewage Industrial Wastes, 1951, 23, (943).

- 71 - HERGUEZ C. - Etude analytique des eaux de rivière de la région Rhône-Alpes. Composition - Pollution.
- Thèse Pharmacie, Lyon, 1965.
- 72 - HEY A.E., GREEN A. and HERKNESS A. - An automated system for the determination of chemical oxygen demand.
- Water Research, 1969, 3, (873-886).
- 73 - HORLER A. - Die Kon sequenzen aus der Ergebnissen der Belebtschlanimversuche der EAWAG für die Abwassertechnik.
- Res. Suisse Hydrol., 1965, 26, (289-309).
- 74 - HORVATH I.M.R.E. - Modelling of oxygen transfer process in aeration tanks.
- Third Int.Conf.on Water Pollution Res., 1966, section II.
- 75 - HUET M. - La pollution des eaux. L'analyse biologique des eaux polluées.
- Bull.du Centre Belge d'Etude et de Documentation des Eaux., 1949, n° 5 et 6.
- 76 - HUGHES C.E. (Jr.), REYNOLDS J.F. - Activated sludge studies at decatur, Illinois.
- J. Wat.Pollut.Control Feder. USA, 1969, 41, (184-198).
- 77 - HUNERBERG K., SARFERT F., FRENZEL H.J. - Ein Betray zum Problem "Blähschlanm".
- Gas-u. Wasserfach, Dtsch., 1970, 111, (7-10).
- 78 - IMAMURA S., ASHIZAWA Y. - Etudes sur la boue activée. I.
- Jap. J. Hyg., 1966, 21, (44-47).
- 79 - JACOB S., BISCHER M. and HERSCHLER R.J.
- Curr. Ther. Res., 1964, 6, (134).
- 80 - JACOBITZ K. - Adaptation des stations communales d'épuration d'eaux usées à des effluents industriels variables.
- Tribune du Cebedeau, 1969, 22, (466-475).
- 81 - JATINDER K. BEWTRA, WILLIAM R. NICHOLAS and LAWRENCE B. POLKOWSKI - Effect of température on oxygen transfert in water.
- Water Research, 1970, 4, (115-123).
- 82 - JONES P.M. - A mathematical model for contact stabilisation-modification of the activated sludge process.
- 5th Int.Conf.on Water Pollution Res., 1970, section II.

- 83 - KALINSKE A.A. - Turbulence diffusivity in activated sludge aeration basins.
- 5th Int.Conf.on Water Pollution Res.,1970,section II.
- 84 - KAYSER R. - Comparison of aeration efficiency under process conditions.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollution Res.,1968,section II.
- 85 - Mc KENDRICK - Oxidation founts - An their futur in pollution control.
- Paper presented at IUPAC Symposium on the chemical control of the human environment. Johannesburg, 1969, 14July.
- 86 - Mc KINNEY R.E. - Complete mixing activated sludge.
- Water servage Works, 1960, 107, (69-73).
- 87 - Mc KINNEY R.E., O'BRIEN W.J. - Activated sludge basic design concepts.
- J.Wat.Pollut.Control,Feser.USA, 1968, 40, (1831-1843).
- 88 - Mc KINNEY R.E. and WEICHLIN R.G. - Isolation of floc - producing from activated sludge.
- Appl. Microbiol., 1953, 1, (259-261).
- 89 - KIUCHI K., KURAISHI H., MUROOKA H., AIDA K., UEMURA T. - Floc formation in activated sludge. II - Identification of twelve representative strains isolated from activated sludge.
- J.Gen.Appl.Microbiol., Jap., 1968, 14, (399-409).
- 90 - KLIMOWICZ H. - Essais de laboratoire pour éliminer la bactérie sphaerotilus natans f dichotomus (Cohn), pendant l'épuration des eaux usées par boues activées.
- Gas Woda Tech. Sanit., Polska, 1969, 43, (272-277).
- 91 - KLIMOWICZ H. - Importance des microorganismes dans le traitement des eaux usées par boues activées.
- Gas Woda Tech. Sanit., Polska, 1969, 43, (311-314).
- 92 - KNOP E. and KALBSKOPF K.H. - Energy and hydraulic tests on mechanical aeration systems.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollution Res.,1968,section II.
- 93 - KOLB K., JAENICKE G., KRAMER M., SCHULZE P. - Annals of the New-York Academy of Sciences.
- Biological actions of Dimethylsulfoxide,1966,141.(1-671).
- 94 - KUNICKI-GOLDFINGER W.J.H., MAKOWSKI S., WIESZTORT M. - Formal discussion. II - Aspects concerning the treatment of waste waters from oil refineries in Roumania.
-Third Int.Conf.on Water Pollut.Res.,Munich,Germany, 1966.

- 95 - LANDBERG G.G., GRAULICH P.B. and KIPPLE W.H. - Experimental problems associated with the testing of surface aeration equipment.
- Water Research, 1969, 3, (445-455).
- 96 - LANGLEY W.D., DAVIS W.B., RICHARDS P.A. - The decomposition of aliphatic esters by aerobic microorganisms.
- Purdue Univ., Engng, Ext. USA, 1968, 23, (229-241).
- 97 - LAZURKEVYCH Z.V., BUKH I.G., STOJANOVA L.V. - Nombre de bactéries et teneur en Vitamine B₁₂ dans les boues activées.
- Mikrobiol., Zh. Ukrajn. R.S.R., 1967, 29, (100-105).
- 98 - LAZURKEVYCH Z.V., BUKH I.G., STOJANOVA L.V., KANCELJARUK R.M. - Biosynthèse de Vit. B₁₂ par des microorganismes isolés à partir de boues activées.
- Mikrobiol., Zh. URSS, 1969, 31, (443-449).
- 99 - LEAKE C.D., WEYER F.M. - Biological actions of dimethylsulfoxide.
- Ann. of the New-York Acad. of Sci., 1967, 141, (1-671).
- 100 - LECLERC Ed. - Eaux potables et eaux résiduares. Les techniques de correction et d'épuration.
- H. Vaillant - Garmanne, Liège, 1945, (384 p.).
- 101 - LECLERC H. - Les boues de décantation des traitements d'épuration : études parasitologiques, bactériologiques et virologiques des boues fraîches et traitées. Recherche des procédés les plus convenables.
- Rapp.final D.G.R.S.T., Action concertée : Eau contrat n° 6700 600 sep. 1968.
- 102 - LIGHTHART B., OGLESBY R.T. - Bacteriology of an activated sludge waste water treatment plant. A guide to methodology.
- J. Wat. Pollut.Control Feder.USA, 1969, 41, (267-281).
- 103 - LINDBERG J.J. -
- Finska Kemistsamfundets Med., 1961, 70, (33-39).
- 104 - LUDZACK - Characteristics of a laboratory model activated sludge unit.
- J.Water pollution Control Feder., 1960, 63, (605-609).
- 105 - MALANEY G.W., GERHOLD R.M. - Structural determinants in the oxidation of aliphatic compounds by activated sludge.
- J.Wat.Pollut.Control Feder.USA, 1969, 41, (R18-R33).

- 106 - MAH R.A., SUSSMAN C. - Microbiology of anaerobic sludge fermentation. I- Enumeration of the nonmethanogenic anaerobic bacteria.
- Appl. Microbiol., USA, 1968, 16, (358-361).
- 107 - Manual on disposal of refinery wastes volume on liquid wastes.
- Chapter 13 - Biological treatment. Copyright 1969, American Petroleum Institute.
- 108 - MATELES R.I., CHIAN S.K. - Kinetics of substrate uptake in pure and mixed culture.
- Environnement Sci.Technol.USA, 1969, 3, (569-574).
- 109 - MIMURA A., KAWANO T., YAMAGA K. - Utilisation des micro-organismes dans l'industrie pétrochimique. II- Un type de culture commensale pour la préparation de boues actives.
- J. Ferment.Technol., Jap., 1970, 48, (68-72).
- 110 - MONTGOMERY Mc. - The determination of DBO by respirometric methods.
- Water Research, 1967, 1, (631-662).
- 111 - MUNTEANU A., CUTE E. and NEGULESCU C. - Treatment of waste waters from kraft cellulose factories.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.
- 112 - NAITO M. TAKAMATSU T. and FAN L.T. - Optimisation of the activated sludge process optimum volume ratio of aeration and sedimentation vessels.
- Water Research, 1969, 3, (433-443).
- 113 - NAITO M., TAKAMATSU T., FAN L.T., LEE E.S. - Model identification of the biochemical oxidation process.
- Biotechnol. and Bioengng, USA, 1969, 11, (731-743).
- 114 - NAKASHIO M. - Phenolic wastes treatment by activated sludge process. The operating condition and actual operation.
- J. Ferment.Technol., Jap., 1969, 47, (389-393).
- 115 - NANACKOVA-ZEREOVA Z. - Application des principes de base de l'épuration biologique par boues activées au traitement des effluents de la fabrication du chemlon.
- Vysk.Ust.Vodohosp.Bratislava, Prace Stud., 1966, n°40.
- 116 - NEGULESCU M.G. and ROSANSKI V. - Recent research to determine reparation coefficient.
- Water Research, 1969, 3, (189-202).

- 117 - NEGULESCU M.G., VAICUM L. and GODEANU S. - Aspects concerning the treatment of waste waters from oil refineries in Roumania.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1966, section II.
- 118 - NISHIKAWA S. and KURIYAMA M. - Nucleic acid as a component of mucilage in activated sludge.
- Water Research, 1968, 2, (811-812).
- 119 - PAINTER-DENTNO H.A. and QUARMBY C. - Removal of sugars by activated sludge.
- Water Research, 1968, 2, (427-447).
- 120 - PAOLETTI A., MARTONE G. - L'impianto pilota a fanghi attivati con bacino unico installato nell'Istituto di Igiene della Universita di Napoli con fondi del Consiglio Nazionale delle Ricerche.
- Riv. Ital. Ig., 1965, 25, (583-596).
- 121 - PASVEER A. - Investigations on the control of filamentous bulking.
- Fourth Intern.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.
- 122 - PETER G. and WUHRMANN K. - Contribution to the problem of biofloculation in the activated sludge process.
- 5th Int.Conf.on Water Pollution Res., 1970, section II.
- 123 - PFLANZ P. - Performance of (activated sludge) secondary sedimentations basins.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res. 1968, section II.
- 124 - Mc PHEE W.T., SMITH A.R. - From refinery wastes to pure water.
- Hydrotechnic Corporation, New-York, USA.
- 125 - PHILIPPS J. - A safety device for use in the automated determination of chemical oxygen demand.
- Water Research, 1969, 3, (911-912).
- 126 - PIPES W.O. - The ecological approach to the study of activated sludge.
- Adv.Appl.Microbiol., USA, 1966, 8, (77-103).
- 127 - PIPES W.O., MEADE F.S. - Evaluation of the kran's model of activated sludge bulking.
- Purdue Univ., Engng Ext., USA, 23, (111-125).

- 128 - PITTER P., CHUDоба J. - Surface active agents in waste waters. X - Treatment of laundry wastes by activated sludge process.
- Sbor.vys.Sk.Chem.Technol.,Praze, Technol. Vody, 1966, n° 10 (31-47).
- 129 - PITTER P., CHUDоба J., PALATY J. - (en Tchèque) - Traitement biologique des eaux résiduaires de la production de corps organiques, contenant des agents tensio-actifs, et évacuation de la boue en excès.
- Sbor.vys.Sk.Chem.Technol.,Praze F, 1968, n° 14, (27-46).
- 130 - POCHON J., DE BARJAC H. - Traité de microbiologie des sols. Applications agronomiques.
- Dunod Edit., Paris, 1958, (685 p.).
- 131 - PORGES N., JASEWICK L., HOOVER S.R. - Principles of biological oxidation.
- Biological Treatment of sewage and industrial wastes. Ed. Joseph Mc CABE and W.W. ECKEN - felder, J2, I "Aerobic oxidation", (35-48), Reinhold Publishing Corp. New-York, 1956.
- 132 - PRAKASAM T.B.S., DONDERO N.C. - I - Aerobic heterotrophic bacterial populations of sewage and activated sludge. II - Method of characterization of activated sludge bacteria. III - Adaptation in a synthetic waste.
- Appl.Microbiol.USA, 1967, 15, (1122-1127 et 1128-1137).
- 133 - QUICK T.P. - Amenability of a mixture sewage, cereal and board - mill wastes to biological treatment.
- Pro - 13th waste conf. Purdue Univ., 1958, (523).
- 134 - RAMMLER D.H. and ZAFFARONI A. - Biological implication of DMSO based on a review of its chemical properties.
- Ann.of the New-York Acad. of Sci., 1966, 141, (13-23).
- 135 - RAMMLER D.H., GRADO C. and FOWLER L.R.
- Biochemistry, 1964, 3, (224).
- 136 - RASHID H., SIDDIQUI R.S., ENGELBRECHT and SPEECE R.E. - The role of enzymes in the contact stabilization process.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1966, section II.
- 137 - REID R. - Fluctuations in populations of 3 vorticella species from an activated sludge sewage plant.
- J. Protozool., 1969, 16, (103-111).

- 138 - RICHARD I.D. - Thickening characteristics of activated sludge.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res.,Prague, 1968.
- 139 - ROBERT S., ABELSON P., COWIE D., BOLTON E. and BRITTEN R. - 1957, Carnegie Institute of Washington Pib. 607; Carnegie Institute, Washington, D.C.
- 140 - ROBERT S., BREED, MURRAY E.G.D., NATHAN R. and SMITH - Bergey's Manual of determinative bacteriology (1094 p.)
- Baltimore - The Williams and Wilkins C°,1957.
- 141 - ROGOVSKAJA C., LAZAREVA M. and KOSTINA S. - The influence of increased temperature (30-39°C) on the biocoenosis of activated sludge and the intensity of décomposition of organic compounds.
- Fourth.Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.
- 142 - ROSALYND L. - Bacterial degradation of synthetic anionic detergent.
- Water Research, 1968, 2, (849-876).
- 143 - SAWYER C.N. - Biological treatment of sewage and industrial wastes.
- CABEJ.M. and EXKENFELDER W.W., Edit., Reinhold, New-York, 1956.
- 144 - SCHMIDT K.H. - Abbaufähigkit von Brauereiabwasser im Belebtschlammverfahren.
- Braunwissenschaft, Dtsch., 1969, 22, (285-292).
- 145 - SCHOLZ H.G. - L'épuration biologique des eaux résiduaires de tannerie.
- Rev. Techn.Industr.Cuir, Fr., 1967, 59, (350-352).
- 146 - SCHONBORN W. - Bestimmung der Aktiven Biomasse von Belebtschlamm.
- Zbl.Bakteriol.Parasitenkde Infekt. Krauhh.Hyg., 1, Dtsch., 1967, 205, (96-102).
- 147 - SCHROEDER E.D. - Importance of the BOD_plateau.
- Water Research, 1968, 2, (803-809).
- 148 - SEARS P.G., LESTER G.R., DAWSON L.R.
- J. PHYS. CHEM., 1956, 60, (1433).
- 149 - SEKIKAWA Y., NISHIKAWA S., OKAZAKI M. and KATO K. - Release of soluble orthophosphate in the activated sludge process.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.

- 150 - SEPPANEN H. - Problèmes hygiéniques et parasitologiques de la boue digérée.
- Grundförhållning, Sverige, 1969, 22, (45-50).
- 151 - SHONZO TAKAHASHI, TOSHIHIKO FUJITA, MICHIO KATO and TAKASHI SAIKI - Metabolism of suspended matter in activated sludge treatment.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.
- 152 - SMITH P.H., MAH R.A. - Kinetics of acetate metabolism during sludge digestion.
- Appl. Microbiol., USA, 1966, 14, (368-371).
- 153 - SOMERS J.A. - The relation between sludge volume index and sludge content in the activated sludge process.
- Water Research, 1968, 2, (563-573).
- 154 - SONTHEIMER H. - Effects of sludge conditioning with lime on dewatering.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Research, Munich, 1966, section II.
- 155 - SPICKA I. - Fluctuation of effluent quality in activated sludge plants.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968, section II.
- 156 - STANIER R.Y. and DOUDOROFF M. - The aerobic pseudomonas: a taxonomic study.
- J. Gen.Microbiol., 1966, 43, (159-271).
- 157 - SYMONS J.M. - Procedure for determination of the biological treatability of industrial wastes.
- J. Water Pollution Federation, 1960, 32, (841-852).
- 158 - SYMONS J.M., Mc KINNEY R.E. - The biochemistry of nitrogen in the synthesis of activated sludge.
- Swage Ind. Wastes, 1958, 30, (874-890).
- 159 - TATABALA SURYA PRAKASAH - Enumeration, characterization and adaptation of aerobic heterotrophic bacterial populations of activated sludges.
- Dissert. Abstr., B, USA, 1956, 27, n°6, 1717. Res.thèse.
- 160 - TEZUKA Y. - Cation-dependent flocculation in a Flavobacterium species predominant in activated sludge.
- Appl. Microbiol., USA, 1969, 17, (222-226).

- 161 - THABARAJ G.J., GAUDY A.F. - Effect of dissolved oxygen concentration on the metabolic response of completely mixed activated sludge.
- J. Wat.Pollut.Control Feder,USA, 1969, 41, (322-325).
- 162 - THROOP L. - Syntex institute of steroid chemistry.
- Unpublished observation, 1966.
- 163 - TISCHLER L.F., ECKENFELDER W.W. - Linear substrate removal in the activated sludge process.
- Fourth Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1968,section II.
- 164 - TORPEY W.N. - Praticals results of step aeration.
- Sewage Work J., 1948, 20, (782).
- 165 - TSCHORTNER U.S. - A study of the activated sludge process as a bacterial growth process.
- Water Research, 1967, 1, (785-794).
- 166 - TUCEK F., CHUDOKA J. - (en Tchèque) - Contribution à la théorie du procédé des boues activées avec mélange complet.
- Sbor.vys.St.Chem.Technol.,Praze,F, 1968,n°13,(65-79).
- 167 - TUCEK F., CHUDOKA J., - Purification efficiency in aeration tanks with complete mixing and piston flow.
- Water Research, 1969, 3, (559-570).
- 168 - VAICUM L., GRUIA E. - The determination of some enzymatic activities as a research method of the activated sludge.
- Rev. Roumaine de Biol., 1965.
- 169 - VAICUM L., ILISIESCU A. - Adsorption des détergents sur la boue activée, facteur intervenant dans certains tests de biodégradation.
- Stud. Protect.Epurar.Apelor,Român, 1969,12,(251-271).
- 170 - VILLEMONTÉ J.R., ROHLICH G.A. and WALLACE A.T. - Hydraulic and removal efficiencies in sedimentation basins.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1966,section II.
- 171 - WESTBERG N. - A study of the activated sludge process as a bacterial growth process.
- Wat. Res., G.B., 1967, 1, (795-804).
- 172 - WESTBERG N. - An introductory study of régulation in the activated sludge process.
- Water Research, 1969, 3, (613-621).

- 173 - WURHMANN - Factors affecting efficiency and solids production in the activated sludge process.
- In Biological treatment of sewage and industrial wastes. Vol. 1 - J.Mc CABE and W.W. ECKENFELDER, Editors Reinhold, New-York, 1956.
- 174 - YIN S.C., MOYER J.E. - Use of chemical dispersants in the enumeration of bacteria in activated sludge.
- Appl. Microbiol., USA, 1968, 16, (1790-1791).
- 175 - ZAHRADKA V. - The role of aeration in the activated sludge process.
- Third Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1966,section II.
- 176 - ZEPER J. and DE MAN A. - New developments in the design of activated sludge tanks with low DBO loadings.
- 5th Int.Conf.on Water Pollut.Res., 1970, section II.

TABLE DES MATIERES

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>CHAPITRE I - Généralités sur les techniques d'épuration</u>	3
1) Classification des eaux usées	3
2) Les différents types de traitement	5
1) Les bassins d'oxydation	6
2) Les lits bactériens	7
3) Les bassins d'activation	7
<u>CHAPITRE II - Mécanisme d'épuration par les boues activées</u>	10
1) Théorie du traitement biologique par les boues activées	10
2) Fonction des microorganismes	11
3) Source de microorganismes	14
4) Réactions biochimiques de base	15
5) Structure chimique et biodégradabilité	18
6) Les différents germes rencontrés dans les boues activées	22
<u>CHAPITRE III - Etude bibliographique particulière du phénol et du DMSO</u>	27
<u>Traitement des eaux contenant du phénol</u>	
I - Généralités	27
II - Traitement par voie biologique	28
1) Etude des possibilités de biodégradation du phénol ..	28
2) Etude en laboratoire de l'épuration mixte d'effluents urbains et industriels renfermant du phénol	30
3) Différentes possibilités d'épuration	30
4) Exemple de traitement	34
<u>Etude du DMSO</u>	
I - Structure et propriétés physico-chimiques	34
II - Etude du DMSO dans un système biologique	35
1) Le DMSO en tant que solvant dans un système biologique	35
2) Métabolisme du DMSO	36
III- Données bactériologiques DMSO et bactéries	38
1) Le DMSO en tant que facteur de croissance	38
2) Le DMSO en tant qu'agent bactériostatique	39
<u>CHAPITRE IV - Etude bibliographique des pilotes</u>	42
<u>Conception et construction d'une installation de labo-</u> <u>ratoire utilisant le procédé mixte d'aération et d'agi-</u> <u>tation des boues activées.</u>	
1) Introduction	42
2) Paramètres entrant en jeu dans le procédé des boues activées .	42

2-1) Substances nécessaires au métabolisme	42
2-2) Homogénéisation de l'eau usée dans le bassin d'aération	43
2-3) Temps de rétention dans le bassin d'aération	43
2-4) Température	45
2-5) Puissance utile dissipée	46
2-6) Aération	48
2-7) Transfert de l'oxygène	49
2-8) Flocs et excès de boues	50
2-9) Charge de pollution et charge hydraulique	52
2-10) Efficacité du traitement	53
2-11) Décantation	54
2-12) Etude en laboratoire du procédé des boues activées	55
 <u>CHAPITRE V - Matériel et méthodes</u>	57
<u>Construction du pilote</u>	
I - Définition du pilote et but recherché	57
II - Caractéristiques de l'installation	58
1) Rappel du principe	58
2) Description du pilote	58
a) Stockage de l'eau	58
b) L'aérateur	64
c) Le décanteur	64
d) Cellule de déversement	65
<u>Méthode et analyses physico-chimiques</u>	
I - Détermination du pH	67
II - Dosage des composés phénoliques	67
III- Demande biochimique d'oxygène (DBO)	68
1) Principe de cette DBO	69
2) Facteurs intervenant dans ce test	69
3) Signification	70
IV - Demande chimique en oxygène (DCO)	70
1) Définition	70
2) Principe	70
3) Résultats	71
V - Dosage du diméthylsulfoxyde (DMSO)	71
Techniques bactériologiques	73
A) Milieux utilisés	
a) Milieu d'isolement	73
1) Gélose nutritive	73
2) Milieu à l'extrait de boue	73
b) Milieu d'identification	74
- Les milieux classiques	74
- Techniques sur plaques	77
B) Méthodologie	
1) Première période : Etude de la dégradation du phénol	79
a) Origine des boues activées	79
b) Prélèvement	79
c) Numération des germes totaux	80
d) Isolement des bactéries	80
e) Identification	80
1) Etude morphologique des colonies	80
2) Etude microscopique des germes	80
3) Identification biochimique	80
a) Techniques classiques	81
b) Les techniques en plaques	82
f) Etude du phénol en tant que facteur de croissance	82

2) <u>Deuxième période</u> : Etude de la dégradation d'un effluent mixte phénol + DMSO ..	84
a) Mesures techniques	84
b) Etude bactériologique	84
3) <u>Troisième période</u> : Essais d'améliorer le rendement d'épuration en ensemençant une souche d'Aerobacter aerogenes	85
a) Mesures techniques	85
b) Etude bactériologique	85
<u>CHAPITRE VI</u> - Résultats	86
I - <u>Première période</u> : Etude de la dégradation du phénol	88
1) Résultats des épreuves physico-chimiques	88
2) Résultats bactériologiques	92
A - Etude du premier prélèvement : phase A	92
1) Numération des germes totaux	92
2) Etude des caractères physico-chimiques des bactéries isolées	92
3) Etude du phénol en tant que facteur de croissance ...	93
B - Etude du deuxième prélèvement : phase C	99
1) Numération des germes totaux	99
2) Etude physico-chimique des bactéries isolées	99
3) Etude du phénol en tant que facteur de croissance ...	103
II - <u>Deuxième période</u> : Etude de la dégradation d'un effluent mixte phénol + DMSO	104
1) Résultats physico-chimiques	104
2) Résultats bactériologiques	107
1°) Numération des germes totaux	107
2°) Etude physico-chimique des bactéries isolées	107
3°) Etude du phénol et du DMSO en tant que facteur de croissance	110
3) Conclusion	112
III- <u>Troisième période</u> : Essais d'amélioration du rendement d'épuration en ensemençant une souche d'Aerobacter aerogenes	112
1) Résultats physico-chimiques	112
2) Résultats bactériologiques	112
a) Numération des germes	112
b) Etude physico-chimique des bactéries isolées	115
c) Etude du phénol et du DMSO en tant que facteur de croissance	115
3) Conclusion	117
<u>DISCUSSION</u>	120
<u>CONCLUSION</u>	126
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	127

TABLE DES SCHEMAS

	Pages
<u>Figure 1</u> - Relations symbiotiques entre les algues et les bactéries...	12
<u>Tableau I</u> - Différentes bactéries présentes dans les boues activées selon DIAS et BHAT	23
<u>Figure 2</u> - Pourcentage de coliformes présents dans les boues activées.	24
<u>Figure 3</u> - Oxydation ultrasonique du phénol	32
<u>Tableau II</u> - Etude du pouvoir bactériostatique du DMSO sur différents germes	40
<u>Figure 4</u> - Différentes phases de croissance des microorganismes présents dans les boues activées	44
<u>Figure 5</u> - Vitesse du métabolisme selon les bactéries mésophiles et thermophiles	47
<u>Figure 6</u> - Unité d'épuration biologique de laboratoire utilisant le procédé des boues activées	59
<u>Tableau III</u> - Caractéristiques de l'unité d'épuration	63
<u>Figure 7</u> - Positions limites des différents appareils	66
<u>Tableau IV</u> - Schéma d'étude du phénol en tant que facteur de croissance.	83
<u>Tableau V</u> - Plan de l'expérimentation	87
<u>Tableau VI</u> - Etude de la dégradation du phénol pendant la phase B	88
<u>Tableau VII</u> - Test de l'épuration de la station	90
<u>Figure 8</u> - Test de l'épuration pendant la phase C	91
<u>Tableau VIII</u> - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur gélose nutritive	94
<u>Tableau IX</u> - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur milieu à l'extrait de boue	95
<u>Tableau X</u> - Caractères biochimiques des différentes couches isolées ...	96
<u>Tableau XI</u> - Utilisation de substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive A ₁ à A ₅ et sur milieu à l'extrait de boue AB ₁ à AB ₅	97
<u>Tableau XII</u> - Utilisation du phénol comme seule source de carbone par les bactéries isolées lors de la phase A	98
<u>Tableau XIII</u> - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase C sur gélose nutritive	100
<u>Tableau XIV</u> - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées sur milieu à l'extrait de boue pendant la phase C	101
<u>Tableau XV</u> - Utilisation des substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive CC ₁ à CC ₅ et sur milieu à l'extrait de boue CD ₁ à CD ₃	102
<u>Tableau XVI</u> - Utilisation du phénol comme seule source de carbone par les bactéries isolées lors de la phase A	103
.../...	

<u>Tableau XVII</u> - Tests de l'épuration de la station pendant la phase E.....	105
<u>Figure 9</u> - Tests de l'épuration pendant la phase E	106
<u>Tableau XVIII</u> -Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase E sur gélose nutritive	108
<u>Tableau XIX</u> - Utilisation des substrats glucidiques et azotés par les souches isolées sur gélose nutritive EE ₁ à EE ₄ et AA Lo 1314	109
<u>Tableau XX</u> - Utilisation du phénol et du DMSO par les bactéries de la phase E	111
<u>Tableau XXI</u> - Tests de l'épuration de la station pendant la phase F	113
<u>Figure 10</u> - Tests de l'épuration pendant la phase F	114
<u>Tableau XXII</u> - Caractères physico-chimiques des bactéries isolées pendant la phase F sur gélose nutritive	116
<u>Tableau XXIII</u> -Etude des rendements d'épuration en fonction du polluant ..	118
